

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1926-1927

N° 4

SUR LES
MÉTHODES DE DOSAGE DES ALCALOÏDES
dans les préparations de Strychnées

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de

Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le Mai 1927

PAR

LACHAISE (LÉONCE)

Pharmacien de 1^{re} classe

JURY { MM. GORIS, *Président.*
PERROT, *Professeur.*
DELABY, *Agrégé,*

SAINT-CLOUD

IMPRIMERIE GIRAULT

3, Place l'Eglise

1927

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1926-1927

N° 4

SUR LES
MÉTHODES DE DOSAGE DES ALCALOÏDES
dans les préparations de Strychnées

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de

Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le *Mai 1927*

PAR

LACHAISE (LÉONCE)

Pharmacien de 1^{re} classe

JURY { MM. GORIS, *Président.*
PERROT, *Professeur.*
DELABY, *Agrégé,*



SAINT-CLOUD
IMPRIMERIE GIRAULT

3, Place l'Eglise

1927



Personnel de la Faculté de Pharmacie

ADMINISTRATION

MM. RADAIS, *Doyen*, O. ✱, ☿ I.
PERROT, *Assesseur*, O. ✱, ☿ I.
G. DURSENT, *Secrétaire*, ✱, ☿ I.

PROFESSEURS

MM. GUIGNARD, Membre de l'Institut, C. ✱, ☿ I..... Botanique générale.
H. GAUTIER O. ✱, ☿ I..... Chimie minérale.
RADAIS, O. ✱, ☿ I..... Cryptogamie et Microbiologie.
BÉHAL, Membre de l'Institut, C. ✱, ☿ I..... Chimie organique.
PERROT, O. ✱, ☿ I..... Histoire naturelle des médicaments.
COUTIÈRE, ✱, ☿ I..... Zoologie.
N... Physique.
GRIMBERT, ✱, ☿ I..... Chimie biologique.
LEBEAU, O. ✱, ☿ I..... Pharmacie chimique.
DELEPINE, O. ✱, ☿ I..... Hydrologie et Hygiène.
GUERBET, ✱, ☿ I..... Toxicologie.
BOUGAULT, ✱, ☿ I..... Chimie analytique.
A. GORIS, ✱, ☿ I..... Pharmacie galénique.

Doyens honoraires : MM. GUIGNARD, C. ✱, ☿ I. et H. GAUTIER, O. ✱, ☿ I.

Professeurs honoraires : MM. MOUREU, G.O. ✱, ☿ I. et A. VILLIERS, ✱, ☿ I.

CHARGÉS DE COURS

MM. TASSILLY, ✱, ☿ I..... Minéralogie.
MARC HONNORAT, ✱, ☿ I. Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LUTZ, ✱, ☿ I..... Cryptogamie.
GUÉRIN, ✱, ☿ I..... Botanique.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. SOMMELET, ✱, ☿ I.	MM. LUTZ, ✱, ☿ I.	MM. DELABY, ☿ I.
DAMIENS, ☿ A.	LAUNOY, ✱, ☿ A.	PICON, ☿ I.
TASSILLY, ✱, ☿ I.	HÉRISSEY, ✱, ☿ I.	FABRE, ☿ I.
GUÉRIN, ✱, ☿ I.		MASCRÉ, ☿ I.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, ✱, ☿ I..... Chimie générale.
COUSIN, ✱, ☿ I..... Chimie analytique.
SOUÈGES, ☿ I..... Micrographie.
LEROUX, ☿ I..... Physique.
DEVAL, I..... Microbiologie.
N... Travaux généraux de 4^e année.

Bibliothécaire en Chef : M. BEAULIEUX, ☿ I.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A MON MAITRE

Monsieur le Professeur A. GORIS

*Directeur de la Pharmacie Centrale des Hôpitaux
et Hospices Civils
Chevalier de la Légion d'honneur*

Hommage de respectueuse reconnaissance

A MES PARENTS

A MES AMIS

PRÉFACE

La diversité des méthodes employées pour le dosage des alcaloïdes des préparations de Strychnées a conduit les Membres de la Conférence Internationale de Bruxelles à poser le problème de l'uniformisation de ces méthodes aussi divergentes dans leur technique que dans leurs résultats, et à donner ainsi un titre unique et uniformément obtenu à ces préparations héroïques. Répondant aux vœux de la Commission, nous nous sommes efforcés de faire une étude comparative de ces procédés, et d'expliquer les divergences déjà constatées par plusieurs auteurs entre les diverses méthodes préconisées dans les Pharmacopées françaises et étrangères, de choisir la méthode qui nous a paru la plus précise, de comparer les résultats des dosages chimiques avec les dosages physiologiques, et enfin de fixer des chiffres susceptibles de ratifier tous les suffrages.

Ce travail, effectué au laboratoire de Pharmacie galénique, sous les yeux de M. le Professeur GORIS, trouvera sa récompense s'il peut apporter quelques éclaircissements à cette question si discutée.

Au moment de terminer nos études, nous ne voudrions pas quitter cette Faculté de Paris sans exprimer à notre maître, M. le Professeur GORIS, nos sentiments de vive gratitude pour la bienveillance avec laquelle il nous a accueilli dans son laboratoire et prodigué ses conseils autorisés et affectueux.

Qu'il nous soit permis de lui dédier ce travail comme témoignage sincère de notre plus profonde reconnaissance, faible hommage de la très vive admiration que nous gardons pour lui.

Nos remerciements vont également à M. le Professeur PERROT, et à M. le Professeur agrégé DELABY qui ont bien voulu nous faire l'honneur de faire partie du jury appelé à examiner cette thèse; qu'ils reçoivent ici l'expression de notre très sincère dévouement.

Nous ne saurions oublier M. le Professeur TIFFENEAU et

son chef de laboratoire Mlle J. LÉVY, qui nous ont largement ouvert leur laboratoire de Physiologie de la Faculté de Médecine, et nous ont initié aux techniques qui nous furent nécessaires pour établir la toxicité de nos préparations.

Que M. le Professeur NICOLAS, Directeur de l'Ecole Vétérinaire d'Alfort, veuille bien trouver ici l'expression de notre bien sincère gratitude pour l'affabilité avec laquelle il a mis à notre disposition, les animaux nécessaires à nos essais, et les laboratoires de son remarquable établissement.

Enfin je n'aurais garde d'omettre mon camarade JANOT, appelé récemment au poste de préparateur du laboratoire de Pharmacie galénique, et tout en le remerciant du profit que nous avons retiré de ses solides connaissances de chimiste, de l'assurer de notre indéfectible amitié.

INTRODUCTION

La première Conférence Internationale de 1902 pour l'unification des remèdes héroïques a fixé pour chaque préparation de Noix vomique un titre uniforme en alcaloïdes totaux, qui doit être de 2 gr. 50 % pour la poudre, 2 gr. 50 ‰ pour la teinture au dixième et de 16 % pour l'extrait.

Le titre des préparations de Fèves de Saint-Ignace ne fut pas envisagé, ces préparations n'existant que dans la Pharmacopée Française.

La plus grande latitude était accordée à chaque Pharmacopée pour le mode d'obtention de ces médicaments; et pourtant il serait désirable que le *modus operandi* des préparations internationales fut partout identique.

Il est incontestable, par exemple, que des Laudanums préparés avec de la poudre ou de l'extrait d'opium peuvent avoir le même titre en morphine, leur composition est cependant très différente, l'un contenant toute la narcotine, l'autre en étant dépourvu.

L'inconvénient est évidemment moins grand pour les préparations de Noix vomique qui ne comportent que la teinture et l'extrait, ce dernier n'étant, en réalité, qu'une teinture alcoolique que l'on évapore et transforme en extrait sec.

Mais ce qui est surtout regrettable c'est que l'accord ne se soit point fait, et dans le choix d'une méthode de dosage des principes actifs, et sur la façon d'exprimer cette activité.

Des pharmacologues se sont occupés depuis déjà longtemps de cette anomalie.

En ce qui concerne plus particulièrement l'extrait de Noix vomique, M. DULIÈRE (1) a montré les divergences que l'on pouvait constater entre les dosages gravimétriques et titrimétriques

Procédé gravimétrique	Procédé titrimétrique	Différence
17,60	16	10 %
22	19,20	14,60 %
16,50	14,76	11,80 %
20	17,10	17,50 %
16,10	13,10	18,30 %
15,50	13,46	19,60 %

(1) DULIÈRE, *Guide pratique de Pharmacie*, Charleroi 1907, p. 254.

MM. GORIS et WIRTH (1), sans trouver des écarts aussi considérables, montrent également que le dosage en pesée donne des chiffres plus élevés que le dosage en volume de 7 à 8 %.

Procédé gravimétrique	Procédé titrimétrique	Différence
17,43	16,18	7 %
22,03	20,18	8 %

La question de l'unification des méthodes de dosage chimique des médicaments a été de nouveau envisagée par la deuxième Conférence Internationale pour l'unification de la formule des médicaments héroïques, qui s'est tenue à Bruxelles en 1925.

Dans le programme des travaux soumis à cette réunion, la 4^e question inscrite à l'ordre du jour avait trait à l'unification des méthodes de dosage chimique de ces médicaments. Il convient de rappeler les termes dans lesquels la question fut envisagée, et l'exposé des motifs qui avaient poussé les organisateurs à faire résoudre cette question par une réunion internationale de pharmacologistes.

« (2) Etant donné l'intérêt supérieur qui s'attache à ce que les médicaments héroïques aient une teneur uniforme, non seulement dans les officines d'une même nation, mais dans celles de différents pays civilisés, c'est à juste titre que l'unification des méthodes de dosage chimique de certains médicaments préoccupera les délégués de divers gouvernements.

« Il ne faut pourtant pas dissimuler que l'unification étant un idéal difficile à réaliser, il s'agira de déterminer jusqu'à quel point la Conférence pourra envisager les solutions facilement et rapidement exécutables.

« Dès lors, la Conférence ne devrait-elle pas se limiter à un rôle plus restreint mais plus pratique.

« Il pourrait consister :

« 1^o A déterminer les médicaments les plus importants au point de vue thérapeutique, pour lesquels les méthodes des diverses pharmacopées divergent au point de faire courir un danger sérieux au malade.

« Puis ceci fait, on pourrait adopter deux façons de faire :

a) La façon mitigée qui consisterait à engager les Etats qui usent des méthodes les plus divergentes (dans leurs résultats), à

(1) GORIS et WIRTH, *Bull. des Sc. Pharm.* A propos de l'extrait de Noix vomique et de l'unification des méthodes d'analyse, **17**, 1910, p. 515.

(2) 2^e Conf. int. de Bruxelles. Travaux préparatoires, 4^e question, p. 6 et 7.

en choisir une autre parmi un certain nombre de méthodes suffisamment concordantes;

b) La façon la plus radicale qui consisterait à choisir une seule méthode applicable dans tous les pays.

« La Conférence pourrait donc d'emblée unifier toutes les méthodes.

« En résumé, le travail de la Conférence peut se limiter à faire un choix entre les diverses méthodes, ou à déterminer seulement les directives pour régler ce choix sans remettre à l'étude des méthodes elles-mêmes. »

M. HAIRS, qui fut rapporteur de la 4^e question posée à la Conférence Internationale de Bruxelles, a fait choix, pour établir l'importance de l'uniformité des dosages, des préparations d'Opium et de Noix vomique. Il a résumé les méthodes de dosages employées par les diverses Pharmacopées pour toutes les préparations de Noix vomique. Ce sont ces tableaux synoptiques que nous allons reproduire ici, avec l'intention de rendre service aux pharmaciens qui n'ont pu se procurer les Travaux préparatoires de la deuxième Conférence Internationale de Bruxelles.

POUDRE DE NOIX VOMIQUE (Strychni Semen)

— 14 —

PAYS	DÉNOMINATIONS	ORIGINE	TITRE ET MÉTHODE DE DOSAGE
Allemagne	Semen Strychni	Strychnos nux vomica Linné	Au moins 2,5 % alcaloïdes dont la moitié au moins en strychnine. Dosage volumétrique.
Autriche	Semen Strychni	Strychnos nux vomica Linné	Doit renfermer 2,5 % alcaloïdes. Dosage pondéral.
Belgique	Strychni Semen	Strychnos nux vomica Linné	Doit renfermer 2,5 % alcaloïdes, à ajuster par du sucre de lait. Dosage pondéral.
Espagne	Nux vomica	Strychnos nux vomica Linné	Doit renfermer 2,5 % alcaloïdes. Aucune méthode de dosage.
Etats-Unis	Nux vomica	Strychnos nux vomica Linné	Doit renfermer au moins 2,5 % alcaloïdes. Dosage volumétrique.
France	Pas de dénomination latine	Strychnos nux vomica Linné	Doit renfermer au moins 2 et au plus 3 % alcaloïdes. La poudre doit en renfermer 2,5 %. Dosage pondéral.
Gde-Bretagne	Nux vomica	Strychnos nux vomica Linné	Au moins 1,25 % strychnine. La poudre doit en renfermer 1,25 % à ajuster par du sucre de lait. Dosage pondéral.
Hongrie	Nucis vomiceæ semina	Strychnos nux vomica Linné	Doit renfermer au moins 2,5 % alcaloïdes. Dosage volumétrique.
Italie	Nux vomica	Strychnos nux vomica Linné	Doit renfermer 2,5 % alcaloïdes, à ajuster par du sucre de lait. Dosage pondéral.
Japon	Semen Strychni	Strychnos nux vomica Linné	Doit renfermer au moins 2,5 % alcaloïdes. Dosage volumétrique.
Pays-Bas	Semen Strychni	Strychnos nux vomica Linné	Doit renfermer 2,5 % alcaloïdes, à ajuster par de la poudre ou de l'amidon de riz. Dosage volumétrique.
Suisse	Semen Strychni	Strychnos nux vomica Linné	Doit renfermer au moins 2,5 % alcaloïdes. Dosage volumétrique.
Première Conférence	Strychni Semen seu Semen Strychni seu Nux Vomica	Strychnos nux vomica Linné Strychnos nux vomica Linné	 Teneur alcaloïdique : 2,5 %.

*Exposé des différentes techniques de dosages d'alcaloïdes,
d'après les diverses Pharmacopées, pour la Poudre
de Noix vomique*

Allemagne. — Extraction par parties égales chloroforme-éther; déplacement par NaOH. Contact de trois heures. Addition d'éther, filtration et distillation des deux tiers du liquide. Purification par HCl dilué; solution acide déplacée par $\text{Co}^3 \text{Na}^2$, épuisement par CHCl^3 dont on extrait ensuite les alcaloïdes par agitation avec un volume déterminé d'HCl N/10 (après addition d'éther). Séparation de la solution acide et dosage *volumétrique* en présence d'iodéosine.

Autriche. — Traitement éther (3 part.), CHCl^3 (1 part.) avec addition d' AzH^3 . Purification par HCl dilué. Alcaliniser par AzH^3 ; reprendre par éther-chloroforme, distiller, évaporer à plusieurs reprises avec quelques centimètres cubes d'éther et *peser* le résidu.

Belgique. — Epuiser par alcool à 70° mélange poudre et sable, évaporer, aciduler par acide acétique et épuiser à l'éther.

Extraire alcaloïdes par mélange de deux parties d'éther et de une partie de CHCl^3 en présence d' AzH^3 . Recueillir quantité de liqueur éthéro-chloroformique correspondant à 10 grammes de poudre. Distiller, ajouter au résidu de l'éther qu'on évapore et *peser* finalement le résidu après dessiccation à 100°.

Espagne. — Pas de méthode de dosage.

Etats-Unis. — Extraction par mélange CHCl^3 (1 part.) et éther (3 part.) en présence d' AzH^3 . Décantation des deux tiers de la solution (après long repos). Agitation avec eau acidulée par SO^4H^2 . Déplacer par AzH^3 et extraire par CHCl^3 . Dissoudre les alcaloïdes dans 10 cc. So^4H^2 N/10 et *tirer volumétriquement* en retour par solution N/50 KOH (Indicateur : cochenille).

France. — Extraire par 100 cc. éther et 20 cc. CHCl^3 , déplacer par AzH^3 , purifier par HCl 2/50, déplacer par AzH^3 et reprendre par mélange éthéro-chloroformique. Laver avec 2 centimètres cubes eau et distiller. *Peser* les alcaloïdes après dessiccation à 100°.

Grande-Bretagne. — Extraction par CHCl^3 (1 part.) éther (2 part.) + AzH^3 ; reprise par So^4H^2 N : déplacement par AzH^3 , reprise par chloroforme et séparation des alcaloïdes par mélange sulfo-azotique. Déplacement par la soude et reprise

par chloroforme qu'on évapore. Ajouter 5 cc. alcool à 95°, dés-sécher et *peser* la strychnine.

Hongrie. — Traitement de la poudre par éther (2 part.) chloroforme (1 part.); déplacement par l' AzH^3 . Agitation. Repos. Prélèvement d'une quantité de liquide dans lequel on dose les alcaloïdes par *titrimétrie* au moyen HCl N/10, et NaOH N/10. (Indicateur : iodéosine).

Italie. — Poudre dégraissée par la pétroléine, traitée par éther (deux part.) chloroforme (une part.) et AzH^3 . Agitation, repos, filtration d'une certaine quantité qu'on distille. Le résidu est repris par de l'acide sulfurique N/10, déplacé par AzH^3 et extrait en deux fois par liqueur éthéro-chloroformique distillée au début. Nouvelle distillation, puis dessication et *pesée* des alcaloïdes.

Japon. — Traitement de la poudre par HCl étendu. Déplacement par NaOH et reprise par éther (190 cc.) chloroforme (35 cc.). Agitation, addition de gomme adragante et filtration d'une partie du liquide que l'on distille. Le résidu alcaloïdique est redissous dans quelques centimètres cubes d'alcool et après addition d'eau et d'éther dosé par *titrimétrie directe* au moyen d' HCl N/10. (Indicateur : hématoxyline).

Pays-Bas. — Introduire la poudre dégraissée par éther de pétrole dans mélange chloroforme et AzH^3 . Après trois heures (agitations fréquentes), filtrer et distiller. Dissoudre le résidu dans quelques centimètres cubes d'alcool, ajouter un volume HCl N/10 filtrer et laver. Après addition d'hématoxyline évaluer *volumétriquement* l'excès d'acide à l'aide d'une solution N/10 KOH .

P.-S. — La Commission de la Pharmacopée Néerlandaise propose de remplacer l'hématoxyline par le rouge de méthyle. Le titrage des alcaloïdes se fait alors *directement* par HCl N/10.

Suisse. — Traitement par mélange CHCl^3 (1 part.) et éther (2 part.); après une demi-heure de contact addition d' AzH^3 et contact d'un jour en agitant souvent.

Après repos, décantation et filtration sur ouate du liquide que l'on pèse puis distille.

Dissolution du résidu dans alcool, addition d'eau et d'éther et *titrage direct* des alcaloïdes par HCl N/10. (Indicateur : hématoxyline).

TEINTURE DE NOIX VOMIQUE

— 17 —

PAYS	DÉNOMINATIONS	PRÉPARATION	TITRE ET DOSAGE	MODE OPÉRATOIRE
Première Conférence	Strychni tinctura seu Nucis vomiceæ tinctura	Percolation Alcool à 70°	Préparer à 10 % Teneur 0,25 % alcaloïdes.	
Allemagne	Tinctura Strychni	Macération alcool dilué (68-69 %)	Préparer à 10 % Teneur 0,25 % alcaloïdes. Dosage volumétrique.	Evaporation après addition SO ⁴ H ² et résidu traité suivant article « Extractum strychni ».
Autriche	Tinctura Strychni	Percolation alcool (68 à 69 %)	Préparer à 10 % Teneur 0,25 % alcaloïdes. Dosage pondéral.	Expulsion alcool et résidu traité comme extrait.
Belgique	Strychni tinctura	Percolation alcool 70 °	Préparer à 10 % Teneur 0,25 % alcaloïdes. Dosage pondéral.	Même procédé que poudre après évaporation de l'alcool.
Espagne	Tinctura alcoholica nucis vomiceæ	Percolation alcool 70 °	Préparer à 10 % Approximativement Teneur 0,25 % alcaloïdes.	Pas de dosage.
Etats-Unis	Tinctura nucis vomiceæ	Percolation par mél. de 3 vol. alcool à 94,9 et de 1 vol. d'eau	Préparer à 10 % (vol.). Ten. 0,25 (0,237 à 0,263 %) d'alcaloïdes.	Procédé poudre et extrait. Sur résidu évaporation de 100 cc. teinture.
France	Tinctura nucis vomiceæ	Solution extrait dans alcool à 70°	Dosage volumétrique. 1 gr. 582 d'extrait %	Pas de dosage.
Gde-Bretagne	Tinctura nucis vomiceæ	Mélange extr. liquide eau et alcool	Teneur 0,25 % alcaloïdes. 0 gr. 125 strychnine pour 100 cc. Dosage pondéral.	On part de l'extrait dosé. Même procédé qu'extrait.
Hongrie	Tinctura nucis vomiceæ	Percolation avec alcool dilué 69,8 à 70,2 %	Préparer à 10 % Teneur 0,25 % alcaloïdes. Dosage volumétrique.	Même procédé qu'extrait.
Italie	Tinctura nucis vomiceæ	Percolation alcool à 70°	Préparer à 10 % Teneur 0,25 % alcaloïdes. Dosage pondéral.	Même procédé qu'extrait. Sur résidu évaporation de 100 gr.
Japon	Tinctura strychni	Macération alcool dilué 68 à 69 %	Préparer à 10 % Teneur 0,25 % alcaloïdes. Dosage volumétrique.	Evaporation 50 gr. teinture jusqu'à 10 cc. Après acidulation par HCl on continue dosage comme extrait.
Pays-Bas	Tinctura strychni	Percolation semences dégraissées à la pétro- lène et alcool dilué 69 à 71 %	Préparer à 10 % Ten. 0,25 (0,237 à 0,262 %) d'alcaloïdes. Dosage volumétrique.	On part de 100 gr. teinture; on chasse alcool et on continue comme extrait avec HCl et vol. alc. N/100.
Suisse	Tinctura strychni	Percolation alcool dilué 68,12 à 69,34 %	Préparer à 10 % Teneur 0,25 % alcaloïdes. Dosage volumétrique.	On évapore au bain-marie teinture. Aciduler par HCl et continuer comme extrait.

EXTRAIT DE NOIX VOMIQUE

PAYS	DÉNOMINATIONS	PRÉPARATION	TITRE ET DOSAGE	MODE OPÉRATOIRE
Première Conférence	Strychni extractum seu Extractum nucis vomicae	Alcool à 70°	Teneur 16 % alcaloïdes.	
Allemagne	Extractum Strychni	Alcool dilué (68 à 69 %)	Teneur 16 % alcaloïdes. Ajuster par sucre de lait. Dosage volumétrique.	Dissol. extrait dans mélange alcool-eau + $\text{SO}^{\text{H}}\text{H}^{\text{3}}$. Addition de CHCl^{3} + lessive de soude + $\text{Co}^{\text{3}}\text{Na}^{\text{2}}$ et une heure contact. Addition éther. Séparation d'une partie qu'on distille aux deux tiers et on continue à peu près comme pour « Semen Strychni ».
Autriche	Strychni Extractum	Alcool dilué (68 à 69 %)	Teneur 16 % alcaloïdes. Aj. par gomme arabique. Dosage pondéral.	Traitement de l'extrait par mélange eau-alcool; fil- trer; chasser l'alcool. Extraction résidu par CHCl^{3} après addition de $\text{Co}^{\text{3}}\text{Na}^{\text{2}}$. Reprise par eau acidulée; déplacement par $\text{Co}^{\text{3}}\text{Na}^{\text{2}}$; reprise par CHCl^{3} . Evaporer et peser.
Belgique	Extractum Strychni	Dégraiss. à l'éther Alcool à 70°	Teneur 16 % alcaloïdes. Ajuster par sucre de lait. Dosage pondéral.	Traiter par eau. On enlève les alcaloïdes en solution ammoniacale par mélange éther-chloroforme et on poursuit comme pour « Strychni pulvis ».
Espagne	Extractum alcoholicum nucis vomicae	Alcool à 70°	Teneur 16 % alcaloïdes. Ajuster par sucre de lait. Dosage pondéral.	Dissolution de l'extrait dans eau alcalinisée par $\text{Co}^{\text{3}}\text{Na}^{\text{2}}$ et extraction chloroformique. Reprise par eau acidulée par $\text{SO}^{\text{H}}\text{H}^{\text{3}}$; libérer par AzH^{3} et reprise par CHCl^{3} . Evaporer, peser.
Etats-Unis	Extractum nucis vomicae	Mélange 3 vol. alcool à 94,9 % et 1 vol. eau Dégraiss. à pétroléine	Teneur 16 % alcaloïdes. (15,2 à 16,8 %) Ajuster par mélange de magnésie et amidon. Dosage volumétrique.	Extrait + sable, traité par éther, CHCl^{3} , AzH^{3} . Décantation de certaine quantité et continuer comme pour poudre.
France	Extractum nucis vomicae	Alcool à 70° Dégraiss. à l'éther	Teneur 16 % alcaloïdes. Ajuster par sucre de lait. Dosage volumétrique.	Dosage avant fin préparation de l'extrait. Déplace- ment alcaloïdes par AzH^{3} . On épuise par CHCl^{3} on évapore à sec et on reprend par quantité déterminée $\text{SO}^{\text{H}}\text{H}^{\text{3}}$ /10. On titre en retour avec KOH N/10. Indicateur : iodéosine. On calcule extrait sec et on ajuste.

EXTRAIT DE NOIX VOMIQUE (Suite)

— 19 —

PAYS	DÉNOMINATIONS	PRÉPARATION	TITRE ET DOSAGE	MODE OPÉRATOIRE
Grèce-Bretagne	Extractum nucis vomicae	Evaporation avec phosphate tricalc. de l'extr. liquide préparé par repercolation avec alcool à 70° et dégraissé par paraffine solide	Teneur 5 % strychnine. Ajuster par phosphate calcaïque. Dosage pondéral.	Comme extrait fluide. Extraction par CHCl_3 après déplacement par Co^+Na_2 . On purifie par So^+H_2 normal. On sépare alcaloïdes et on pèse strychnine.
Hongrie	Extractum nucis vomicae	Alcool dilué (69,8 à 70,2 %)	Teneur 16 % alcaloïdes. Ajuster par dextrine. Dosage volumétrique.	On déplace la solution d'extrait par AzH_3 et mélange éther-chloroforme, puis dosage titrimétrique avec $\text{ClN}/10$ et $\text{NaOH N}/10$.
Italie	Extractum nucis vomicae alcoholicum	Alcool à 70° Dégraiss. à pétroléine	Teneur 16 % alcaloïdes. Ajuster par sucre de lait. Dosage pondéral.	Comme poudre.
Japon	Extractum Strychni	Alcool dilué (68 à 69 %)	Teneur 16 % alcaloïdes. Ajuster par sucre de lait. Dosage volumétrique.	Dissolution dans mélange eau-alcool et HCl . Evaporer. Reprise par l'eau. Filtrer, laver. On extrait par éther-chloroforme en déplaçant par NaOH et on continue comme il est dit à « Strychni Semen », sauf emploi gomme adragante.
Pays-Bas	Extractum Strychni	Alcool dilué (69 à 71 %)	Teneur 16 % alcaloïdes (15,7 à 16,3) Ajuster par sucre de lait. Dosage volumétrique.	Comme poudre, sans naturellement traitement préalable par éther de pétrole.
Suisse	Extractum Strychni	Alcool dilué (68,12 à 69,34 %)	Teneur 16 % alcaloïdes Ajuster par sucre de lait. Dosage volumétrique.	Extraction des alcaloïdes par éther-chloroforme en présence AzH_3 . Filtration, distillation et dosage titrimétrique par $\text{HCIN}/10$ avec indicateur : hematoxyline.

Les méthodes de dosage qui apparaissent comme très variées peuvent se réunir en deux catégories :

1° Celles dans lesquelles on dose les *alcaloïdes totaux* (majorité des Pharmacopées;

2° Celles dans lesquelles on dose la *strychnine seulement* (Grande-Bretagne).

Dans le premier groupe, il y a deux grandes distinctions à faire entre :

1° Les procédés *gravimétriques* (Autriche, Belgique, Italie, France).

2° Les procédés *titrimétriques* (Allemagne, Etats-Unis, Hongrie, Japon, Pays-Bas, Suisse, France).

La Pharmacopée française fait doser la poudre de Noix vomique au moyen d'une méthode gravimétrique, et l'extrait par une méthode titrimétrique.

L'unification est à souhaiter non seulement entre toutes les Pharmacopées mais aussi dans la Pharmacopée d'un même pays.

Le procédé de la Pharmacopée britannique est tout à fait spécial. Après extraction des alcaloïdes totaux par un mélange éthéro-chloroformique en présence d' AzH^3 , ceux-ci sont repris par une solution d' So^4H^2 diluée; on déplace à nouveau par AzH^3 et on redissout dans CHCl^3 . Le résidu strychnine-brucine est soumis à l'action d'un mélange sulfo-azotique pour détruire la brucine. Une dernière extraction chloroformique en présence de soude donne la strychnine seule.

Ce procédé est également préconisé par le délégué de la Pharmacopée égyptienne.

I. — Les *procédés par pesée* (Autriche, Belgique, Italie, France) sont assez différents l'un de l'autre. La poudre brute ou dégraissée à l'éther de pétrole (Italie) est épuisée par un mélange éther-chloroforme en présence d' AzH^3 . Les alcaloïdes sont purifiés par agitation avec HCl dilué, puis précipités à nouveau par AzH^3 et repris par un mélange éthéro-chloroformique qu'on distille.

En Italie, on agit de la même façon, mais en distillant à siccité la solution alcaloïdique et en traitant le résidu avec So^4H^2 au lieu d' HCl .

Le procédé belge est tout à fait spécial. On opère sur l'extrait alcoolique acidifié par l'acide acétique débarrassé de matières grasses par l'éther. Les alcaloïdes séparés par solution éthéro-chloroformique sont évaporés et pesés.

On considère que l'extrait a été suffisamment purifié et

privé de matières grasses par agitation à l'éther en présence d'acide acétique.

Enfin, nous rappellerons que des méthodes non officielles de dosage par pesée ont été proposées depuis peu. Elles font appel à la précipitation des alcaloïdes à l'état de silicotungstate que l'on recueille et calcine pour peser le résidu de $\text{SiO}_2 \cdot 12\text{TuO}_3$.

II. — La majorité des Pharmacopées accorde au contraire la préférence au *dosage titrimétrique*, et les manipulations sont dans ce cas plus uniformes.

A part la Pharmacopée néerlandaise, qui utilise le chloroforme seul comme dissolvant (après dégraissage de la poudre par l'éther de pétrole), les autres emploient comme, pour le dosage en pesée, un mélange d'éther et de chloroforme après déplacement par l' AzH^3 . Seules les Pharmacopées de l'Allemagne et du Japon se servent de la soude.

Les différences portent surtout sur le titrage lui-même.

Les opérations précédentes aboutissent en effet à l'obtention d'un résidu alcaloïdique.

Ce dernier est alors dosé directement par HCl N/10 en se servant d'hématoxyline comme indicateur (Japon, Suisse) soit par titrage en retour, après avoir dissous ces alcaloïdes dans une solution acide N ou N/10 avec des solutions alcalines N/10, N/50 ou N/100, en se servant d'indicateurs variés (iodéosine, cochenille, hématoxyline, rouge de méthyle).

Pour ces dosages titrimétriques l'uniformité serait presque accomplie si l'on adoptait partout les mêmes indicateurs et les mêmes solutions titrées.

C'est donc entre ces diverses méthodes titrimétriques que la Conférence Internationale propose de faire un choix et M. HAIRS conclut que de nouveaux essais comparatifs seraient peut-être nécessaires pour arriver à établir celle qui mérite la préférence.

Nous voulons donc étudier comparativement ces différents dosages en vue de permettre à notre représentant à la Commission Internationale pour l'unification des méthodes de dosages chimiques et physico-chimiques d'apporter dans la discussion un avis autorisé, basé sur un ensemble de recherches comparatives.

Des travaux ont déjà été faits par HÉBERT, BLANCHER, DUJARDIN, AZADIAN, mais n'ont pas été conçus dans un but de comparaison, en vue de rallier toutes les opinions et d'être adoptés par toutes les Pharmacopées.

En un mot, la discussion restait ouverte sur tous les procédés préconisés par ces auteurs.

Nous étudierons donc successivement chacune des méthodes utilisées.

En premier lieu, le dosage séparé en strychnine (selon le procédé de la Grande-Bretagne) dans le but de déterminer les teneurs alcaloïdiques de nos échantillons.

Puis le dosage des alcaloïdes totaux, soit par le procédé de pesée directe des alcaloïdes, ou après précipitation par l'acide silicotungstique, et enfin les dosages titrimétriques avec les divers indicateurs signalés.

D'autre part, la deuxième Conférence Internationale ayant émis le vœu que la standardisation biologique soit introduite dans les Pharmacopées, dans la mesure où elle serait reconnue nécessaire, nous vérifierons, notre choix établi, si les dosages physiologiques et chimiques donnent des résultats parallèles ou discordants.

Dans le premier cas, le dosage chimique seul s'impose; dans le deuxième cas, il y aurait lieu d'ouvrir une discussion sur la méthode qui devra être employée.

Il importait que l'étude des essais physiologiques fût faite par les auteurs des méthodes chimiques.

Nul n'était mieux qualifié qu'eux pour pouvoir donner un jugement motivé et sûr.

Ce travail d'ensemble, fait sous les yeux de M. le Professeur GORIS, membre de la Commission Internationale, doit lui servir de base pour les discussions futures aux Conférences internationales.

PREMIÈRE PARTIE

PRÉPARATIONS DE NOIX VOMIQUE

CHAPITRE I

A. — Dosage des Alcaloïdes par la méthode gravimétrique

1. — SÉPARATION QUANTITATIVE DES ALCALOÏDES DES STRYCHNÉES. — DOSAGE DE LA STRYCHNINE

Il nous a paru rationnel de commencer nos recherches par l'étude du dosage gravimétrique de la strychnine, cette séparation quantitative des deux alcaloïdes (strychnine-brucine) devant nous donner des indications pour les autres méthodes de dosage et nous permettre de discuter de la teneur de la Noix vomique en l'un et l'autre de ces corps.

La constante employée dans les dosages volumétriques et la méthode gravimétrique au silicotungstate correspond au poids moléculaire moyen des deux alcaloïdes, mais faut-il admettre, pour ce faire, que la brucine et la strychnine soient en proportion équivalentes et constantes dans la drogue.

Avant d'exposer la méthode que nous avons choisie comme paraissant donner les meilleurs résultats nous rappellerons quelques procédés anciennement employés pour le dosage de la strychnine dans le mélange des alcaloïdes retirée de la Noix vomique.

Le premier en date est celui de DUNSTAN, SHORT et WYNDHAM (1). Il consiste à précipiter le mélange alcaloïdique par le ferrocyanure de potassium. Le ferrocyanhydrate de strychnine est insoluble alors que le sel correspondant de brucine est soluble.

HOLST et BECKURTS (2) reprirent cette méthode et opérèrent volumétriquement.

(1) DUNSTAN, SHORT et WYNDHAM. The Quantitative Separation of Strychnine and Brucine, *Pharmaceutical Journal and Transaction*, (3^e), **14**, 1882-1884, 290.

(2) HOLST et BECKURTS : *Pharm. centralh.*, Zur quantitativen Bestimmung des Strychnins und Brucins, **28**, 1887, 119.

Cette méthode de séparation est abandonnée car il y a toujours un entraînement de ferrocyanhydrate de brucine avec le sel de strychnine assez important, et les résultats sont faussés dès le début même de la manipulation, qui de plus est très délicate.

La seconde technique de séparation est basée sur la destruction de la brucine. L'idée première semble en revenir à GEROCK (1) qui propose de détruire le picrate de brucine en présence d'Azo³H.

Ces deux dernières méthodes ont été critiquées par BLANCHER (2) comme inconstantes et donnant des résultats un peu trop discordants.

KELLER (3) décrit ensuite un procédé où les alcaloïdes sont directement traités par Azo³H en milieu sulfurique. On prend 0,2 à 0,4 gr. de matière alcaloïdique desséchée, on les chauffe avec 10 cc. d'SO⁴H² N/10 au bain-marie jusqu'à complète dissolution. Après refroidissement, on ajoute à la solution 1 cc. d'Azo³H de D = 1,41 à 1,42 (acide azotique fumant). On agite. La coloration rouge résultant de l'action oxydante de l'acide azotique sur la brucine apparaît aussitôt. On laisse reposer le mélange une heure et demie. On ajoute 40 gr. d'éther et 40 gr. de CHCl³ puis 10 cc. d'AzH³. On agite fortement. On filtre 40 gr. du mélange éthéro-chloroformique dans un ballon taré et on distille.

Le résidu obtenu est desséché à 100° et pesé. On a le poids de strychnine de la prise d'essai.

GORDIN (4) étudie la méthode de KELLER en opérant sur des alcaloïdes qu'il purifie par plusieurs cristallisations dans l'alcool. Il ne retrouve que 96 % de strychnine dans le mélange strychnine-brucine. Pour expliquer cette perte il est amené à considérer :

1° Ou que la concentration de l'Azo³H est trop grande;

2° Ou que la durée d'action de l'Azo³H est trop considérable;

(1) GEROCK : *Arch. der Pharmazie*, Trennung des Strychnins von Brucin, **237**, 1889, p. 159.

(2) BLANCHER : Sépar. quant. de la Strychnine et de la Brucine, *Thèse Doct. Pharm.*, Paris 1903, p. 41.

(3) KELLER : *Zeitschrift für Analytische Chemie*, Die Bestimmung des Alkaloidgehaltes von Strychnos-Samen, **33**, 1894, p. 491.

(4) GORDIN : *Arch. der Pharmazie*, Die quantitative Bestimmung des Strychnins in Gemischen von Strychnin und Brucin, **240**, 1902, p. 641.

3° Ou bien encore que ces deux circonstances s'unissent pour agir défavorablement.

Après plusieurs essais, il modifie heureusement le procédé Keller, de la façon suivante, en diminuant le titre de l'acide azotique.

Le mélange alcaloïdique (0,2 à 0,3) est dissous au bain-marie avec une solution d' So^4H^2 à 3 %. La solution est traitée par 3 cc. d'un mélange à parties égales d'eau et d'acide azotique de $D = 1,42$. Après dix minutes, on verse une solution dans une ampoule, on alcalinise fortement la solution par la soude et on extrait la strychnine non attaquée par le chloroforme.

Par cette technique il sépare, avec des différences qui ne sont pas supérieures à 0,3 %, toute la strychnine contenue dans les divers mélanges d'alcaloïdes qu'il avait préparés.

BLANCHER nous donne également un procédé basé sur la destruction des alcaloïdes par Azo^3H , qu'il combine avec un procédé d'extraction de ces alcaloïdes à l'état de silicotungstate. Ces silicotungstates d'alcaloïdes sont régénérés en les déplaçant par AzH^3 et extraits par du chloroforme. On les dessèche à l'étuve à 120° jusqu'à poids constant. Les alcaloïdes desséchés sont attaqués directement dans la capsule par 3 cc. du mélange Azo^3H fumant et eau employé par GORDIN. On laisse en contact dix minutes en détachant avec une baguette de verre les parties adhérentes aux parois de la capsule pour faciliter la dissolution.

On additionne la liqueur acide de 8 à 10 cc. d'eau (il se forme un précipité qui augmente avec la dilution) et on l'introduit dans une ampoule à décantation.

La capsule est soigneusement lavée avec quelques centimètres cubes d'eau de façon à avoir dans l'ampoule 30 à 40 cc. de liquide. On ajoute la soude goutte à goutte en agitant pour éviter l'échauffement; la liqueur qui était d'un rouge vif passe au brun sale lorsque la saturation est atteinte. La brucine est détruite et la strychnine précipitée est extraite par le chloroforme. On évapore au bain-marie à siccité puis on met dans l'étuve à 120° jusqu'à poids constant.

Nous avons fait toute une série d'essais personnels de ces deux derniers procédés afin de nous assurer que les résultats étaient comparables. Le procédé de GORDIN étant employé dans la Pharmacopée britannique, nous le donnons à dessein ici tel qu'il est inscrit au Codex anglais.

« Dissoudre les alcaloïdes dans 15 cc. d'eau contenant 3 % en poids d' So^4H^2 . Chauffez la solution à 50° et ajoutez 3 cc. d'une mixture à volumes égaux d' Azo^3H fumant et eau. Laissez

en contact dix minutes. Versez la solution dans une ampoule à décantation avec un peu d'eau, neutralisez avec une solution de soude, et extrayez par 10 cc., 5 cc. et 5 cc. de chloroforme. Lavez le chloroforme avec 5 cc. d'eau distillée et transportez-le dans une capsule tarée; faites évaporer au bain-marie et *ajoutez, vers la fin, 5 cc. d'alcool à 90°*. Evaporez, portez à l'étuve à 100° et pesez. »

Les résultats comparatifs de ces deux méthodes sont réunis dans le tableau suivant :

Procédé BLANCHER

Essais	Mélange contenant		Strychnine trouvée après destruction de la brucine	Erreur en trou
	strychnine pure	brucine pure		
N° 1	0,2000	0,1000	0,2188	0,0188
N° 2	0,1500	0,1500	0,1815	0,0315
N° 3	0,1000	0,1000	0,1174	0,0174

Procédé GORDIN (Codex Anglais)

N° 1	0,2000	0,1000	0,2034	0,0034
N° 2	0,1500	0,1500	0,1543	0,0043
N° 3	0,1000	0,1000	0,1029	0,0029

Les résultats de BLANCHER sont supérieurs à ceux du Codex anglais, et cela tient, pour une grande part, à ce qu'il enlève ses alcaloïdes *par le CHCl³* seul, car nous démontrerons plus loin que la brucine, de même que la strychnine, retient énergiquement le chloroforme et donne ainsi un poids d'alcaloïdes trop élevé.

Ces résultats nous ont encouragé à diriger nos recherches vers le procédé du Codex anglais et nous avons cherché la cause de la faible différence entre le poids théorique et le poids trouvé expérimentalement, différence qui est de 2 à 3 %.

Après une minutieuse analyse de nos produits employés, nous avons trouvé que cette différence est due aux causes suivantes :

1° A l'absorption de CHCl³ par la strychnine, chloroforme que n'entraîne que partiellement l'alcool ajouté à la fin de l'opération du dosage;

2° A l'emploi de la soude comme base de déplacement;

3° A la destruction non complète de la brucine.

Pour vérifier la première cause d'erreur nous avons dissous des poids connus de strychnine pure dans du CHCl³. Après

distillation de ce dernier et addition de 5 cc. d'alcool à 95° nous avons fait évaporer, et desséché à l'étuve jusqu'à poids constant.

Essais	Poids primitif de strychnine pure	Après 24 h. étuve 110°	Après 3 jours étuve 110°	Après 4 jours étuve 110°	Différence en trop
1°	0,2000	0,2016	0,2014	0,2014	+0,0014
2°	0,1000	0,1010	0,1009	0,1009	+0,0009
3°	0,1500	0,1514	0,1512	0,1512	+0,0012

La strychnine retient donc toujours, dans ces conditions opératoires, une petite quantité de CHCl_3 .

Une seconde différence, faible il est vrai, porte sur l'emploi de la soude. Des destructions faites dans les mêmes conditions, en se servant de NaOH ou d' AzH_3 comme base, nous ont donné des chiffres légèrement en faveur de ce dernier alcali.

Essais	Mélange contenant		Séparation effectuée avec NaOH comme base	Séparation effectuée avec AzH_3 comme base	Différence
	strychnine pure	brucine pure			
N° 1	0,2000	0,1000	0,2029	0,2023	0,0006
N° 2	0,1500	0,1500	0,1544	0,1538	0,0006
N° 3	0,1000	0,1000	0,1028	0,1024	0,0004

Malgré la très petite différence constatée, il paraît préférable de faire le déplacement de la strychnine par l' AzH_3 .

Pour la troisième erreur, nous avons remarqué que si l'on reprenait, par une liqueur aqueuse acide, le résidu alcaloïdique de strychnine séparée du mélange, il restait un résidu insoluble, même en opérant à chaud. Ce résidu ne donne aucune réaction avec les réactifs alcaloïdiques et nous pensons que ce sont des produits provenant de la destruction incomplète de la brucine.

Nous avons pesé quelques-uns de ces résidus après dissolution de la strychnine par la liqueur acide à chaud, lavage du résidu à l'eau distillée, et dessiccation à l'étuve à 110° jusqu'à poids constant.

Essais	Mélange contenant		Résidu après neutralisation par AzH_3	Résidu après neutralisation par NaOH
	strychnine	brucine		
N° 1	0,2000	0,1000	0,0011	0,0012
N° 2	0,1500	0,1500	0,0023	0,0028
N° 3	0,1000	0,1000	0,0010	0,0012

Ce sont toutes ces petites différences accumulées qui font que le chiffre expérimentalement trouvé s'écarte de 2 à 3 % du chiffre théorique.

Pour remédier à ces diverses erreurs nous avons, après de longues et fréquentes analyses, apporté quelques modifications à ce procédé :

1° Nous employons l' AzH^3 comme base pour déplacer la strychnine du mélange des alcaloïdes totaux

2° Nous reprenons la strychnine séparée, après son extraction chloroformique par une liqueur acide, et après déplacement par l' AzH^3 nous l'extrayons par un mélange éthéro-chloroformique comprenant, en volume, 90 parties d'éther et 30 de chloroforme. En effet, nous avons constaté que dans ces conditions la strychnine ne retenait pas de chloroforme. De plus, grâce à cette amélioration qui consiste en une purification d'alcaloïde, nous supprimons l'erreur apportée par le résidu insoluble dans la liqueur acidulée.

Voici donc comment nous recommandons d'opérer pour avoir des chiffres exacts :

Dissolvez le mélange alcaloïdique dans 15 cc. d'une solution contenant 3 % en poids d' So^4H^2 . Chauffez au bain-marie à 50° jusqu'à dissolution complète des alcaloïdes. Ajoutez alors à chaud 3 cc. d'une solution d' Azo^3H de $D = 1,41$ à $1,42$ dilué de moitié et laissez dix minutes en contact (1). Versez le liquide dans une ampoule à décantation et rincez la fiole en deux fois avec 10 cc. et 5 cc. d'eau distillée que vous ferez passer dans l'ampoule.

Versez un excès d' AzH^3 (10 cc. environ) et extrayez la strychnine par 15 cc., 10 cc. et 10 cc. de chloroforme. Réunissez les liqueurs chloroformiques que vous laverez dans une ampoule à décantation avec 5 cc. d'eau distillée bien neutre. Soutirez le chloroforme que vous distillerez. Reprenez le résidu alcaloïdique par 30 cc. d'une solution d' HCl à 4 % à chaud. Laissez refroidir, filtrez sur un petit entonnoir garni d'un petit fragment de coton hydrophile, et lavez fiole, entonnoir et coton avec deux fois 5 cc. d'eau.

Déplacez par l' AzH^3 et extrayez par 50 cc. puis 30 cc. d'un mélange éthéro-chloroformique contenant 30 cc. CHCl^3 et 90 cc. d'éther. Distillez en deux fois au bain-marie dans une fiole conique de 150 cc. tarée, mettez à l'étuve vingt-quatre heures à 110° et pesez.

(1) N.-B. — Le produit d'oxydation de l'acide azotique sur la Brucine porte le nom de Cacothéline.

Voici quelques chiffres obtenus par ce procédé :

Essais	Mélange contenant		Strychnine obtenue après séparation	Différence
	strychnine pure	brucine pure		
N° 1	0,1000	0,1000	0,1004	+0,0004
N° 2	0,1500	0,1500	0,1504	+0,0004
N° 3	0,2000	0,1000	0,1999	—0,0001
N° 4	0,0942	0,0836	0,0944	+0,0002
N° 5	0,0731	0,0900	0,0734	+0,0003
N° 6	0,1042	0,0421	0,1041	—0,0001

Cette méthode, appliquée à des extraits, poudres et teintures de noix vomique (les uns mis gracieusement à notre disposition par les maisons DAUSSE, DARRASSE, VERNIN et la *Pharmacie Centrale de France*, les autres préparés par nous), nous a donné les résultats suivants :

DOSAGES DE POUDRES DE VOIX VOMIQUE

Echantillons	Teneur en eau	Alcaloïdes totaux bruts	Alcaloïdes totaux (1) corrigés	Alcaloïdes totaux o/o	Strychnine (prise d'essai)	Brucine corrigée (prise d'essai)	Strychnine o/o	Brucine o/o
N° 1	9,2	0,1952	0,1890	2,36	0,0905	0,0985	47,89	52,11
N° 2	11,4	0,1692	0,1631	2,11	0,0631	0,1000	38,69	61,31
N° 3	8,79	0,1931	0,1877	2,346	0,1022	0,0855	54,45	45,55
d°	d°	0,1932	0,1879	2,348	0,1029	0,0850	54,77	45,23
N° 4	10,3	0,2763	0,2657	3,32	0,0992	0,1735	34,70	65,30
N° 5	10,12	0,1837	0,1794	2,24	0,1074	0,0720	59,87	40,13

DOSAGES DE TEINTURES DE NOIX VOMIQUE

Echantillons	Alcaloïdes totaux bruts prise d'essai : 40 gr.	Alcaloïdes totaux corrigés	Strychnine (prise d'essai) séparée	Brucine (prise d'essai) corrigée	Strychnine o/o	Brucine o/o	Alcaloïdes totaux o/o parpesée
N° 1	0,1064	0,1032	0,0473	0,0559	45,84	54,16	2,58
N° 2	0,0925	0,0901	0,0474	0,0427	52,61	47,39	2,25

DOSAGES D'EXTRAITS DE NOIX VOMIQUE

Echantillons	Alcaloïdes totaux bruts prise d'essai 1 gr.	Alcaloïdes totaux corrigée	Alcaloïdes totaux o/o	Strychnine (prise d'essai)	Brucine corrigée (prise d'essai)	Strychnine o/o	Brucine o/o
N° 1	0,1641	0,1579	15,79	0,0634	0,0945	40,15	59,85
N° 2	0,1724	0,1668	16,68	0,0778	0,0890	46,65	53,35
N° 3	0,1187	0,1156	11,56	0,0556	0,0600	48,10	51,90
N° 4	0,1694	0,1632	16,32	0,0647	0,0985	39,65	60,35
N° 5	0,1583	0,1528	15,28	0,0668	0,0860	43,73	56,27
N° 6	0,1672	0,1613	16,13	0,0663	0,0950	41,11	58,89
N° 7	0,1477	0,1434	14,34	0,0674	0,0760	47,01	52,99
N° 8	0,1479	0,1415	14,15	0,0775	0,0640	54,78	45,22

(1) Par « alcaloïdes totaux corrigés », nous désignons une correction effectuée sur la brucine qui, fixant le CHCl_3 , augmente les poids des alcaloïdes totaux. La technique de cette correction est exposée p. 32.

En résumé, nous voyons par ces résultats que l'on peut trouver des échantillons très différents en teneur alcaloïdique séparée.

Ces différences de teneur en strychnine vont jusqu'à 15 % dans nos échantillons d'extrait et 20 % dans ceux de poudre.

De plus, fait assez anormal, deux échantillons de poudre de Noix vomique nous ont donné une richesse plus grande en strychnine qu'en brucine alors qu'il est courant d'admettre que la Noix vomique est plus riche en brucine qu'en strychnine.

L'extrait n° 8 et la teinture n° 2 faite par percolation avec la poudre n° 3 sont également plus riches en strychnine. Il était donc indispensable d'effectuer cette séparation d'alcaloïdes qui nous permet d'affirmer que les divers échantillons ont une teneur très variable en strychnine et en brucine.

II. — DOSAGE DES ALCALOÏDES TOTAUX PAR PESÉE DIRECTE

Il semblerait que la méthode la plus simple de dosage des alcaloïdes dans les préparations des Strychnées, consisterait à extraire ces alcaloïdes par un solvant (chloroforme ou éther-chloroforme) après déplacement par l' AzH^3 . La solution chloroformique ou éthéro-chloroformique, évaporée jusqu'à poids constant, donnerait le poids exact des alcaloïdes totaux.

Cette méthode de dosage ne donne pas des résultats précis parce que le chloroforme se combine à la strychnine et surtout à la brucine pour former des composés que la chaleur ne peut arriver à dissocier complètement.

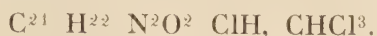
Nous avons donc étudié la façon dont se comportaient les alcaloïdes vis-à-vis des solvants qui servent à les extraire.

Ce sont ces recherches qui nous ont montré que l'extraction de la strychnine par le chloroforme seul, comme le faisait BLANCHER, ou par le chloroforme suivi d'addition d'alcool, comme le recommande le Codex anglais, n'était pas à conseiller puisque dans ces conditions expérimentales le solvant restait, en plus ou moins grande quantité, fixé à l'alcaloïde.

Ce fait avait d'ailleurs été signalé par TROWBRIDGE (1) pour la strychnine. Cet auteur avait même obtenu un chloroformate

(1) TROWBRIDGE : Ueber das Verhalten des Iodoforms und Chloroforms gegen Strychnin. *Arch. des Pharmazie*, **237**, 1899, p. 624.

de strychnine en chauffant ces deux corps à 120° dans des tubes scellés. Il donne la formule suivante de ce composé :



Analysé après dessiccation et obtention d'un poids constant, l'auteur avait constaté qu'il restait environ une molécule de chloroforme pour une molécule de strychnine.

BLANCHER (1), de son côté, a obtenu un chloroformate de brucine en abandonnant vingt heures un mélange de brucine et de CHCl^3 à la température du laboratoire. Il a obtenu un corps cristallisé, contenant environ 25 % de chloroforme, chiffre correspondant sensiblement à une combinaison renfermant une molécule de chloroforme (24,66 % chiffre théorique) pour une de brucine.

Les quantités de chloroforme absorbées par ces deux alcaloïdes sont fort différentes, car les combinaisons chloroformiques ne sont pas totales, dans nos conditions expérimentales, ainsi que nous allons le voir. Cette recherche nous a permis, en outre, de déterminer au bout de combien de temps de chauffage à 110° cette combinaison ne se dissociait plus.

Des quantités exactes d'alcaloïdes purs et desséchés ont été dissoutes dans du CHCl^3 , et évaporées, puis mises à l'étuve à 110° et pesées à divers intervalles. Les résultats sont consignés dans le tableau suivant et nous montrent avec quelle extrême lenteur la combinaison se dissocie :

	Strychnine	Brucine	Chloroforme combiné à la	
			Strychnine %	Brucine %
Prise d'essai	0,2595	0,2008	non calculé	
Ce poids est devenu après :				
1 heure d'étuve à 110°.	0,3196	0,2893	»	»
2 heures	0,2778	0,2306	»	»
3 heures	0,2707	0,2273	»	»
4 heures	0,2704	0,2248	»	»
18 heures	0,2701	0,2248	»	»
24 heures	0,2696	0,2241	3,972	12
48 heures	0,2695	0,2212	3,91	10,15
4 jours	0,2695	0,2205	»	9,81
5 jours	0,2695	0,2204	»	9,70
8 jours	0,2695	0,2204	»	»
15 jours	0,2695	0,2204	»	»

(1) BLANCHER : *loc. cit.*, p. 51.

Donc, à un moment donné, vingt-quatre heures pour la strychnine et cinq jours pour la brucine, ces alcaloïdes ne perdent plus de chloroforme à la température de 110°. La strychnine a gardé environ 4 % et la brucine 10 % de chloroforme.

Nous avons alors étudié la combinaison chloroformique de ces alcaloïdes, obtenue en les traitant par le mélange éthéro-chloroformique du Codex (20 parties de CHCl_3 et 100 parties d'éther) au lieu du CHCl_3 pur. Nous avons constaté qu'ils se conduisent très différemment. Alors que la strychnine ne retient plus de CHCl_3 après un séjour de vingt-quatre heures d'étuve à 110°, la brucine en garde encore plus de 6 %.

En employant un mélange plus riche en chloroforme (30 parties de CHCl_3 et 90 parties d'éther) que nous utiliserons intentionnellement comme liquide extracteur uniforme, de manière à augmenter le pouvoir dissolvant de ce mélange vis-à-vis de la strychnine (1), nous avons obtenu des résultats analogues.

Comme dans un semblable mélange éthéro-chloroformique la brucine seule retient du chloroforme, nous avons calculé cette teneur après vingt-quatre heures d'étuve à 110°.

Mélange éther-Chloroforme 90/30

Prise d'essai Strychnine pulv. dess.	Ap. 24 h. d'étuve à 110°	Chloroforme fixé %.
0,1138	0,1138	0
0,0642	0,0642	0
0,1002	0,1003	0
Brucine pulv. dess.		
0,0400	0,0420	5
0,0500	0,0530	6
0,0600	0,0636	6
0,0700	0,0741	5,85
0,0800	0,0848	6
0,0900	0,0959	6,55
0,1000	0,1064	6,40

Ajoutons que ce poids de brucine-chloroforme, dans ce cas, reste constant après vingt-quatre heures d'étuve à 110°.

Ces chiffres nous ont servi de base pour établir par le calcul

(1) N.-B. — La strychnine est en effet peu soluble dans le mélange éthéro-chloroformique employé par le Codex soit 0,051 % à 15° alors que notre mélange en dissout 0,0975 dans les mêmes conditions. Ce mélange éthéro-chloroformique employé pour le dosage de la poudre de Noix vomique risque de ne pas dissoudre toute la strychnine contenue dans un produit riche en strychnine.

un tableau de correction destiné à rectifier la quantité de *brucine* trouvée après séparation des deux alcaloïdes.

En prenant le poids des alcaloïdes totaux non corrigés, on aurait une erreur d'environ 6 % en trop portant sur le chiffre de *brucine*. Cette différence augmenterait non seulement le poids des alcaloïdes totaux mais surtout changerait les proportions respectives des deux alcaloïdes.

Pour vérifier les chiffres de correction de ce tableau, nous avons pris des poids variés de *brucine* sèche, et après évaporation de leur solvant éthéro-chloroformique et dessiccation de vingt-quatre heures à l'étuve à 110°, nous avons pesé le résidu *brucine-chloroforme*. Nous avons retrouvé les mêmes chiffres que ceux calculés dans notre tableau de correction que nous donnons ici :

Tableau de correction de la combinaison *Brucine* — CHCl_3
dans le mélange éthéro-chloroformique (90° — 30°)

Brucine pure desséchée	Brucine-chl ₃ après 24 h. étuve à 110°	Brucine pure	Brucine-chl ₃ après 24 h. étuve à 110°	Brucine pure	Brucine-chl ₃ après 24 h. étuve à 110°
0,0410	0,0432	0,0510	0,0540	0,0610	0,0646
0,0420	0,0444	0,0520	0,0551	0,0620	0,0657
0,0430	0,0456	0,0530	0,0561	0,0630	0,0667
0,0440	0,0468	0,0540	0,0572	0,0640	0,0678
0,0450	0,0480	0,0550	0,0583	0,0650	0,0688
0,0460	0,0492	0,0560	0,0593	0,0660	0,0699
0,0470	0,0504	0,0570	0,0604	0,0670	0,0709
0,0480	0,0516	0,0580	0,0614	0,0680	0,0720
0,0490	0,0528	0,0590	0,0625	0,0690	0,0730
0,0500	0,0530	0,0600	0,0636	0,0700	0,0741

Brucine pure	Brucine-chl ₃ après 24 h. étuve à 110°	Brucine pure	Brucine-chl ₃ après 24 h. étuve à 110°	Brucine pure	Brucine-chl ₃ après 24 h. étuve à 110°
0,0710	0,0751	0,0810	0,0859	0,0910	0,0969
0,0720	0,0762	0,0820	0,0870	0,0920	0,0980
0,0730	0,0773	0,0830	0,0881	0,0930	0,0990
0,0740	0,0783	0,0840	0,0892	0,0940	0,1001
0,0750	0,0794	0,0850	0,0903	0,0950	0,1011
0,0760	0,0805	0,0860	0,0914	0,0960	0,1022
0,0770	0,0815	0,0870	0,0925	0,0970	0,1032
0,0780	0,0826	0,0880	0,0936	0,0980	0,1043
0,0790	0,0837	0,0890	0,0948	0,0990	0,1053
0,0800	0,0848	0,0900	0,0959	0,1000	0,1064

La correction, à l'aide de ce tableau, est effectuée de la façon suivante : Les alcaloïdes extraits par le mélange éthéro-chloroformique (90/30) sont mis à l'étuve à 110° exactement

vingt-quatre heures. On pèse les alcaloïdes totaux; après séparation de la strychnine et de la brucine, par destruction de cette dernière, on obtient, par différence, le poids de brucine; sur ce poids nous appliquons notre correction.

Exemple : Dosage d'un extrait (Prise d'essai = 1 gr.).

Alcaloïdes totaux non corrigés après 24 h. d'étuve	Strychnine après séparation	Brucine par différence	Brucine corrigée	Alcaloïdes totaux corrigés	Différence
0,1872	0,0835	0,1037	0,0975	0,1810	0,0062

III. — DOSAGE DES ALCALOÏDES TOTAUX PAR L'ACIDE SILICOTUNGSTIQUE

C'est à la suite des travaux de G. BERTRAND (1), en 1899, que l'acide silicotungstique $12 \text{ TuO}^3 \text{ Sio}^2 2\text{H}^2\text{O}$, s'est révélé comme un réactif précieux des alcaloïdes, d'autant plus qu'il forme avec eux des sels neutres définis, lesquels, d'après l'auteur, auraient la formule générale



On précipite les solutions alcaloïdiques par une solution à 5 % d'acide silicotungstique en milieu acide (sulfurique de préférence) et le précipité, convenablement lavé par une solution acide dans laquelle il est complètement insoluble, est calciné au four. On pèse le résidu d'anhydride silicotungstique $\text{Sio}^2 12 \text{ TuO}^3$, qui a pour poids moléculaire 2844.

L'acide silicotungstique précipitant 4 molécules d'alcaloïdes de poids moléculaire PM, un gramme d'anhydride silicotungstique correspond à $\frac{4 \text{ PM}}{2844}$ gr. d'alcaloïdes.

Il suffit donc pour obtenir le poids d'alcaloïdes contenu dans la prise d'essai, de multiplier le poids d'anhydride silicotungstique par ce coefficient $\frac{\text{PM}}{2844}$ invariable pour un alcaloïde donné.

(1) G. BERTRAND : Sur l'emploi de l'acide silicotungstique comme réactif des alcaloïdes. *Bull. Soc. Chim.*, 3^e série, **31**, 1899, p. 434.

Ce coefficient est de 0,4697 pour la strychnine
0,5541 pour la brucine.

Cette méthode de dosage, d'une technique assez délicate, n'est adoptée par aucune Pharmacopée. Il nous a paru néanmoins nécessaire de reprendre les travaux de DUJARDIN (1) et d'AZADIAN (2) pour comparer leurs résultats dissemblables.

Comme eux, nous avons tout d'abord dosé des solutions titrées d'alcaloïdes purs. Nous avons utilisé, pour ce faire, la méthode de DUJARDIN — plus précise et mieux décrite que celle de M. AZADIAN — qui, lui, opère exactement comme pour le dosage des alcaloïdes de l'Aconit inscrit au Codex français.

On prélève Ncc. de la solution alcaloïdique titrée, et on ajoute 30 cc. d'eau distillée, 5 cc. So^4H^2 1/10, 5 cc. So^4Na^2 1/10 (3) et 10 cc. de solution d'acide silicotungstique pur à 5 %. On fait chauffer au bain-marie bouillant pendant une heure. (S'assurer qu'un excès d'acide silicotungstique ajouté ne trouble pas le liquide surnageant). Après refroidissement complet, la solution surnageant le précipité est décantée sur un filtre, sans cendres, non plissé. On verse sur le silicotungstate 20 cc. d'une solution d'HCl 1/250; on laisse reposer; on décante sur le filtre.

On poursuit les lavages par décantations successives de la solution d'HCl ajoutée par 20 cc. chaque fois.

Vers la fin des lavages on jette le précipité sur le filtre, et le reste de la solution d'HCl sert à entraîner, à l'aide d'un agitateur muni d'un anneau de caoutchouc, les dernières particules de silicotungstates restés sur les parois de la fiole. *On doit employer en tout 800 cc. de solution d'HCl à 1/250.* (Vérifier que quelques gouttes de la liqueur filtrée ne donne aucun louche en présence d'une solution alcaloïdique.) On dessèche à l'étuve et on calcine dans un creuset de platine pendant deux heures, à deux reprises, jusqu'à poids constant du résidu.

Cette méthode donne des résultats parfaits quand on opère sur des solutions d'alcaloïdes isolés et purs.

(1) DUJARDIN : Contribution à l'étude du dosage de la strychnine et de la brucine dans l'extrait de Noix vomique. *Thèse Doctorat Pharmacie*, Lille 1924.

(2) AZADIAN : Dosage des alcaloïdes appliqué aux préparations de Noix vomique. *Journal suisse de Chimie et Pharmacie*, 51, 1913, p. 760.

(3) N.-B. — L'addition de So^4Na^2 a pour but de donner un précipité plus compact et de faciliter la filtration.

Voici des chiffres que nous avons obtenus par cette méthode :

Prise d'essai brucine	Prise d'essai strychnine	Poids de 12 TuO ₃ Sio ₂	Poids calculé	Différence
20 cc. = 0,0394	»	0,0707	0,0391	— 0,0003
20 cc. = 0,0394	»	0,0709	0,0392	— 0,0002
50 cc. = 0,0985	»	0,1782	0,0987	+ 0,0002
»	20 cc. = 0,0668	0,1419	0,0666	— 0,0002
»	20 cc. = 0,0668	0,1424	0,0668	0,0000
»	50 cc. = 0,1670	0,3550	0,1667	— 0,0003

En opérant sur un mélange d'alcaloïdes, le poids de Sio², 12 TuO³ trouvé serait donc encore exact, mais, pour trouver le coefficient par lequel on devrait multiplier ce poids, il faudrait connaître la quantité respective des deux alcaloïdes dans le mélange. Nous trouvons bien le poids de Sio², 12 TuO³ correspondant aux poids de strychnine et de brucine $P = (x \times 0,4697) + (y \times 0,5541)$, mais nous ne connaissons ni x ni y.

Or, c'est le cas qui se présente dans le cas d'un dosage d'alcaloïdes dans les préparations des Strychnées, et c'est pourquoi MM. AZADIAN et DUJARDIN ont été amenés, pour doser les deux alcaloïdes de ces préparations, à calculer une constante qui, d'ailleurs, diffère pour chacun de ces auteurs.

M. DUJARDIN admet une constante qui correspond à un poids moléculaire moyen de la strychnine et de la brucine

1 gramme de Sio², 12 TuO³ correspond à 0,4697 strychnine
 1 — — — — — 0,5541 brucine

Dans ces conditions, un gramme de Sio² 12 TuO³ représente

$$\frac{0,4697 \times 0,5541}{2} = 0,512 \text{ gr. d'alcaloïdes}$$

Il suit d'ailleurs, en cela, le Codex français qui fait prendre pour le dosage acidimétrique, le *Pm* : 364, moyenne arithmétique des poids moléculaires de la strychnine et de la brucine.

M. AZADIAN admet que dans les préparations de Noix vomique le rapport de la strychnine à la brucine est de 44 à 56 et, se basant sur ce rapport, donne une constante égale à 0,4980.

M. AZADIAN adopte d'ailleurs comme poids moléculaire de la strychnine et de la brucine les chiffres de : 344 et 362.

Comme nous le ferons remarquer à propos du dosage volumétrique, une constante fixe ne peut guère être admise à cause

de la variabilité de la proportion des deux alcaloïdes pour des échantillons différents.

Nous avons dosé divers extraits, et calculé avec chaque constante les résultats que nous comparons aux chiffres obtenus dans le dosage gravimétrique en alcaloïdes séparés et corrigés d'après notre tableau, p. 32.

Nous verrons l'erreur varier en + ou en — selon l'échantillon et selon que le rapport strychnine-brucine est inférieur ou supérieur à 1.

Extrait Echan- tillons	Alcaloïdes totaux				Calculé avec constante		Calculé avec constante	
	corrigés par pesée	Strychnine o/o	Brucine o/o	Poids de SiO ₂ 12 TuO ₃	Azadian 0,4980	Différence	Dujardin 0,5420	Différen
n° 1	0,1810	46,14	53,86	0,3675	0,1830	+0,0020	0,1881	+0,0071
Extrait n° 2	0,1415	54,78	45,22	0,3001	0,1494	+0,0079	0,1536	+0,0121
Extrait n° 3	0,1632	39,65	60,35	0,3121	0,1552	—0,0080	0,1597	—0,0033

Cet inconvénient consistant à prendre un coefficient arbitraire nous paraît assez sérieux pour faire hésiter sur l'adoption de cette méthode de dosage.

Toutefois, si l'on voulait doser les alcaloïdes totaux, de toutes les méthodes préconisées qui font appel à un coefficient arbitraire, ce serait la plus précise. Il serait préférable, dans ce cas d'adopter le coefficient correspondant au rapport

$$\frac{\text{strychnine}}{\text{brucine}} = 1$$
, c'est-à-dire celui adopté par DUJARDIN, soit 0,512.

Personnellement, nous préférons le dosage en strychnine seule qui donne un chiffre *absolu*, sans convention.

CHAPITRE II

B. — Dosage des Alcaloïdes par la méthode volumétrique

Cette méthode de dosage est en grande faveur, puisque six Pharmacopées sur onze l'ont adoptée; elle est d'ailleurs facile, rapide et les résultats pour un même opérateur sont assez constants.

Néanmoins, elle est accusée, par les partisans du dosage gravimétrique, de donner des chiffres de 6 à 20 % inférieurs à ceux obtenus par le dosage en poids.

Cet écart est dû en grande partie au dosage gravimétrique qui donne des chiffres trop élevés du fait de la combinaison du chloroforme avec les alcaloïdes. D'autre part, le dosage volumétrique, lui-même, donne des chiffres inférieurs, ainsi que nous le démontrerons plus loin.

Certains auteurs ont accusé la nature des indicateurs très variés qui ont été choisis. A notre avis, l'erreur ne semble pas provenir de ce fait, car après plusieurs expériences, les quatre indicateurs employés dans les différentes Pharmacopées (iodéosine, hématoxyline, cochenille, rouge de méthyle) nous ont donné, sauf la cochenille qui vire fort mal, des chiffres absolument semblables en opérant avec des solutions titrées N/10.

Au contraire, une assez grande différence est constatée, si l'on se sert, pour titrage en retour, d'une solution centinormale. Cette solution N/100 donne un virage douteux (sauf avec l'iodéosine qui est, à notre avis, le colorant le plus sensible) et on obtient alors des chiffres inférieurs et plus variables.

Nous préférons de beaucoup opérer avec des solutions N/10 qui donnent un virage très net et des résultats précis.

Voici d'ailleurs un tableau comparatif de chiffres obtenus dans divers dosages d'un même extrait.

Nous avons employé les divers indicateurs et les solutions sodiques N/100 ou N/10 pour titrer, en retour, la solution sulfurique N/10 contenant les alcaloïdes en solutions :

Indicateurs	Sol. KOH N/100	Sol. KOH N/10	Dosage gravimétrique corrigé
hématoxyline.....	17 gr. 12 alc. %	17 gr. 65 alc. %	} 18 gr.10 %
iodéosine.....	17 gr. 44 alc. %	17 gr. 65 alc. %	
R. de méthyle.....	17 gr. 28 alc. %	17 gr. 63 alc. %	
Teinture de cochenille.	16 gr. 12 alc. %	16 gr. 68 alc. %	

Ainsi donc les indicateurs (sauf la cochenille) se conduisent d'une même façon, et l'emploi des solutions décinormales donne un meilleur chiffre que celui des solutions centinormales.

Il reste cependant à faire ressortir l'erreur qui est due à l'emploi d'une constante numérique arbitraire. Le Codex admet que les alcaloïdes sont à poids égaux dans la Noix vomique, et il prend comme constante la moyenne arithmétique des poids moléculaires de la strychnine et de la brucine, soit 364. Mais les échantillons de Noix vomiques sont dissemblables, (différences allant parfois jusqu'à 15 % de strychnine entre deux échantillons), et une constante ne peut guère se justifier dans ces conditions.

Nous avons préparé des mélanges de strychnine et de brucine, en proportions variées, que nous avons dosé volumétriquement avec des solutions N/10 en présence d'iodéosine et d'hématoxyline, puis nous avons calculé, à l'aide de la constante 0,0364, la quantité d'alcaloïdes totaux obtenus :

Poids d'alcaloïdes purs employés gr.		Rapport o, o	Poids total gr.	Poids obtenu en présence iodéo- sine avec constante 0,0364 gr.	Poids obtenu en présence hémato- xyline avec constante 0,0364 gr.
Strychnine.	0,1200	60	} 0,2000	0,2009	0,2009
Brucine.	0,0800	40			
Strychnine.	0,1000	50	} 0,2000	0,1991	0,1990
Brucine.	0,1000	50			
Strychnine.	0,0800	40	} 0,2000	0,1932	0,1930
Brucine.	0,1200	60			

Pour résumer, quand il y a une quantité supérieure de strychnine (Fève de Saint-Ignace) ou lorsque les quantités de chaque alcaloïde sont égales entre elles, le dosage est pratiquement juste, et pourtant dans le premier cas, le coefficient que l'on aurait dû adopter devrait être 0,359.

Mais dès qu'il y a plus de brucine (conditions remplies par

la plupart des préparations de Noix vomique) le chiffre obtenu est manifestement trop faible.

D'autre part, nous avons fait une série de dosages sur deux extraits :

L'un normal contenant plus de brucine que de strychnine; l'autre anormal fait avec de la poudre n° 3 (v. Tableau p. 29) et contenant plus de strychnine que de brucine.

Voici les chiffres obtenus :

Essais	Alcaloïdes totaux bruts par pesée	Alcaloïdes totaux corrigés	Strychnine prise d'essai séparée	Brucine prise d'essai calculée	Strychnine o/o	Brucine o/o	Alcaloïdes	Alca- loïdes
	prise d'essai 1 gr.						totaux o/o en poids	totaux o/o en volume
N° 1	0,1872	0,1810	0,0845	0,0975	46,14	53,86	18,10	17,64
N° 2	0,1987	0,1932	0,1053	0,0879	54,51	45,49	19,32	19,52

Nous voyons que le premier extrait, qui contient plus de brucine que de strychnine, donne un chiffre plus faible en volume que par pesée, même après correction.

Par contre, le second donne un léger avantage au dosage volumétrique par ce qu'il renferme une plus forte proportion de strychnine. Ceci d'ailleurs nous fournit un gros argument pour expliquer la différence, souvent très forte, constatée entre les titrages volumétriques et gravimétriques.

C'est ainsi que pour l'extrait n° 1 nous aurions trouvé une différence de 10,80 % entre le dosage gravimétrique *non corrigé* et le dosage volumétrique. Par contre, l'erreur du second extrait entre les deux dosages ne serait plus que de 3,50 % en faveur du dosage gravimétrique *non corrigé*.

Si, avec l'emploi d'une constante uniforme 0,0364, nous obtenons des résultats nettement inférieur, cette faiblesse se traduit également lorsqu'on calcule une constante appropriée après séparation des alcaloïdes. Ceci explique que, malgré tout, le dosage volumétrique donne des chiffres encore inférieurs à la réalité.

C'est ainsi que si nous calculons, pour l'extrait n° 1, la constante réelle, — chose facile puisque nous connaissons le pourcentage de chaque alcaloïde, — soit : strychnine 46,14 % et brucine 53,86 %, nous trouvons 0,3664, ce qui nous donne par le calcul 17,75 % d'alcaloïdes totaux, au lieu de 17,64 %. Ce chiffre est, malgré tout, encore inférieur au résultat donné par le dosage gravimétrique corrigé, soit 18,10 % d'alcaloïdes totaux.

Nous expliquons ainsi les divergences constatées par

MM. DULIÈRE, GORIS, et tout dernièrement par M. LÉGER (1), entre les méthodes de dosage gravimétrique et titrimétrique.

Cette différence apparaît aussi très nettement sur des dosages portant sur une quantité moindre d'alcaloïdes.

Exemple : Dosage de deux teintures de teneur alcaloïdique différente :

	Alcaloïdes totaux bruts Prise d'essai 40 gr.	Alca- loïdes totaux corrigés	Strychnine prise d'essai séparée	Brucine prise d'essai calculée	Strych- nine o/o	Bru- cine o/o	Ale. totaux o/oo par pesée gr.	Ale. totaux o/oo par volum. gr.
N° 1	0,1064	0,1032	0,0473	0,0559	45,84	54,16	2,58	2,49
N° 2	0,0925	0,0901	0,0474	0,0427	52,61	47,39	2,25	2,29

Nous voyons également ici, malgré la faiblesse alcaloïdique de la teinture, (le Codex la fixe à 2 gr. 50 0/00), les mêmes différences que dans les extraits ci-dessus dosés. L'erreur, quoique bien moins grande, n'en est pas moins significative et conduit nettement à s'opposer à l'emploi d'une constante.

(1) LÉGER : Valeur comparée de quelques drogues et de leurs préparations, *Journal de Pharmacie et de Chimie* (8), 5, 1927, p. 15 et 49.

DEUXIÈME PARTIE

PRÉPARATIONS DE FÈVES DE SAINT-IGNACE

Les deux préparations utilisées en France sont : 1° la poudre; 2° la teinture de Fèves de Saint-Ignace composée, plus connue sous le nom de *Gouttes amères de Baumé*.

Les préparations galéniques de Fèves de Saint-Ignace ne sont utilisées qu'en France. Ce sont des préparations très actives, et cette activité est due à la forte proportion de strychnine (60 à 70 %) que renferment les alcaloïdes de cette graine, et surtout à la quantité de poudre qui entre dans la formule de la teinture de Fèves de Saint-Ignace composée, (1 partie pour 5 d'alcool). Notre Codex devrait rationnellement fixer un titre pour de telles préparations bien plus actives que celles de Noix vomiques.

Nous nous sommes procuré quelques échantillons de ces préparations, et les avons dosés par les procédés gravimétriques décrits précédemment pour l'extrait et la poudre de Noix vomiques, et nous avons trouvé des teneurs bien différentes entre des préparations faites cependant dans des drogueries et des pharmacies très sérieuses.

Pour doser la teinture nous prélevons 20 grammes de l'échantillon dans une capsule que nous portons au bain-marie pour chasser l'alcool et nous continuons comme pour l'extrait de Noix vomique.

Pour la poudre, après avoir calculé la teneur en eau, nous en prélevons 6 grammes seulement, à cause de sa richesse en strychnine, peu soluble dans le mélange éthéro-chloroformique, ainsi que nous l'avons montré, et nous continuons le dosage comme pour la poudre de Noix vomique.

Voici les chiffres trouvés pour quelques échantillons :

Dosage de poudre de Fèves de Saint-Ignace

Échantillons	Alcaloïdes			Alcaloïdes	Strychnine	Brucine	Strychnine	Brucine
	totaux bruts	totaux corrigés	prise d'essai					
N° 1	Teneur en eau	4 gr. poudr.	prise d'essai	o/o	prise d'essai séparée	d'essai corrigée	o/o	o/o
Pulvérisée	9,22	0,1171	0,1153	2,88	0,0775	0,0378	67,22	32,78
N° 2								
Pulvérisée	10,19	0,1274	0,1236	3,09	0,0756	0,0480	61,17	38,83
N° 3								
Pulvérisée	9,11	0,1508	0,1468	3,67	0,0836	0,0632	56,88	43,12
N° 4								
Pulvérisée	8,90	0,1123	0,1108	2,77	0,0815	0,0293	73,56	26,44
N° 5								
Râpée	7,43	0,1071	0,1051	2,62	0,0667	0,0384	63,47	36,53
N° 6								
Râpée	7,82	0,1089	0,1061	2,65	0,0629	0,0432	59,29	40,71
N° 7								
En rubans	6,12	0,0885	0,0872	2,18	0,0608	0,0264	69,73	30,27

Dosage de Gouttes amères de Baumé

Échantillons	Alcaloïdes totaux bruts		Alcaloïdes totaux corrigés		Strychnine prise d'essai		Brucine prise d'essai	
	20 gr.	prise d'essai	o/o gr.	o/o gr.	séparée	calculée	o/o	o/o
N° 1	0,0690	0,0680	3,40	0,0477	0,0203	70,15	29,85	
N° 2	0,0842	0,0827	4,13	0,0515	0,0312	62,27	37,73	
N° 3	0,0723	0,0713	3,56	0,0485	0,0228	68,03	31,97	
N° 4	0,0572	0,0562	2,81	0,0341	0,0221	57,12	42,88	
N° 5	0,0511	0,0501	2,55	0,0313	0,0188	62,48	37,52	
N° 6	0,0985	0,0973	4,86	0,0658	0,0315	67,63	32,37	
N° 7	0,1236	0,1206	6,03	0,0685	0,0551	56,88	43,12	

Nous constatons un écart énorme entre les teneurs en alcaloïdes totaux des diverses préparations de teinture de Fèves de Saint-Ignace composée, que nous avons étudiées. Nous trouvons, de plus, des différences de teneur en strychnine entre les divers échantillons allant jusqu'à 13 et 14 %.

Pour ces préparations plus encore que pour les préparations de Noix vomiques nous préconisons le dosage en strychnine.

Pour trancher une question déjà soulevée par HÉBERT (1), concernant le rôle joué par la suie et le carbonate de potasse dans la préparation des Gouttes amères de Baumé, nous avons préparé, selon le procédé du Codex, deux teintures par macération, l'une avec, et l'autre sans suie ni Co^3K^2 .

1^{er} Echantillon (Codex)

Alcool à 70°.....	150 gr.
Poudre Fèves Saint-Ignace.....	30 gr.
Co^3K^2	0 gr. 75
Suie	0 gr. 15

2^e Echantillon

Alcool à 70°.....	150 gr.
Poudre Fèves Saint-Ignace.....	30 gr.

Voici les résultats obtenus par les dosages :

Echantillons	Alcaloïdes totaux		Strychnine prise d'essai séparée	Brucine prise d'essai		Alcaloïdes totaux	
	bruts de la prise d'essai 20 gr.	Alcaloïdes totaux corrigés		d'essai corrigée	Strychnine o/o	Brucine o/o	o/o teinture
N° 1	0,0985	0,0973	0,0658	0,0315	67,63	32,37	4,86
(Codex)							
N° 2	0,0962	0,0947	0,0607	0,0340	64,10	35,90	4,73

L'échantillon préparé selon la formule du Codex a une teneur alcaloïdique légèrement supérieure à celle du second. La petite quantité de CO^3K^2 agit comme base et facilite probablement le déplacement de la combinaison alcaloïdique.

HÉBERT propose de supprimer la suie et le CO^3K^2 dans la préparation des Gouttes amères de Baumé. Cette modification de formule a moins d'importance que la fixation de la teneur alcaloïdique et que l'unification de toutes ces préparations pouvant être très dissemblables.

(1) HÉBERT : Etude sur les préparations officinales des Loganiacées. *Thèse Doctoral en Pharmacie*, Paris 1903, p. 55.

TROISIÈME PARTIE

DOSAGE PHYSIOLOGIQUE

Il était indispensable, après le vœu émis par les membres de la Conférence internationale, d'étudier le dosage biologique pour vérifier la concordance ou la discordance entre les méthodes chimiques et biologiques.

Nous avons songé à rechercher un procédé pratique susceptible d'être employé par tous les pharmacologues. Des expériences assez récentes de M. LOMBA LOPEZ (1) nous ont amené à pratiquer des essais sur les poissons, en l'occurrence les *Epinoches*.

Nous avons opéré, selon les conditions décrites par l'auteur : On place les poissons dans 25 cc. de la solution alcaloïdique à étudier; cette solution est contenue dans des vases en verre de même diamètre. *Il est très important d'opérer à 20°.*

Nos solutions sont obtenues en dissolvant dans une capsule la quantité nécessaire de strychnine pure dans 2 cc. de sol. N/10 HCl, et après dissolution on verse dans 800 cc. d'eau contenue dans une fiole jaugée de 1.000 cc.; on lave à plusieurs reprises la capsule avec de l'eau distillée; puis on ajoute 2 cc. de solution N/10 de NaOH; on complète alors à 1.000 cc. avec de l'eau distillée. Les alcaloïdes restent dissous. De plus, pour que le milieu soit très légèrement alcalin, on ajoute dans chaque vase contenant 25 cc. de sol. une goutte de solution de Co^2Na^3 à 2 %. *Un papier de tournesol bleu ne doit pas rougir car le liquide doit avoir un PH voisin de 9.*

Nous avons opéré sur une solution de strychnine au 1/50.000, c'est-à-dire contenant 0,0200 de strychnine pure pour 1.000 cc. de solution. Nous avons fait plusieurs séries d'expériences, dont voici les résultats. Nous ne citerons pas les phénomènes observés, ceux-ci étant fort bien décrits dans la thèse de M. LOMBA LOPEZ (2).

(1) M. LOMBA LOPEZ : Les poissons, réactif biologique très sensible des alcaloïdes. *Thèse, Faculté Médecine, Paris, janvier 1922.*

(2) N. B. — Cependant, contrairement à M. Lomba Lopez, nous constatons qu'après leur mort les épinoches restent la bouche ouverte, et non fermée comme il l'indique.

1^{re} Série d'expériences :

Temps de survie des épinoches (en minutes)

88 - 45 - 36 - 46 - 37 - 75 - 21 - 72

Temps moyen : 50 minutes

2^e Série d'expériences :

Temps de survie (en minutes)

33 - 50 - 34 - 49 - 4 - 110 - 50 - 60

Temps moyen : 48 minutes.

3^e Série d'expériences :

Temps de survie (en minutes)

15 - 48 - 33 - 33 - 20 - 50 - 40 - 135

Temps moyen : 47 minutes.

Nous remarquerons que si le temps de survie de chaque poisson est différent, la moyenne de ces temps ne varie guère. D'après ces données, nous avons recherché s'il existait une concordance entre le dosage d'une solution de strychnine de titre déterminé et une solution d'extrait de Noix vomique de même titre en strychnine, en négligeant volontairement la quantité de brucine entrant en jeu.

Nous avons opéré dans les mêmes conditions que celles employées pour la solution type de strychnine.

Nos expériences ont porté sur deux extraits de composition suivante :

Extrait n° 1

1 gr. extrait = $\left\{ \begin{array}{l} 0,0835 \text{ strychnine} \\ 0,0975 \text{ brucine} \end{array} \right.$

0,2393 extr. = 0,0200 en strychnine et 0,0233 en brucine.

0,2393 extr. + 1.000 cc. H²O = sol. 1/50.000 en strychn.

Extrait n° 2

1 gr. extrait = $\left\{ \begin{array}{l} 0,1053 \text{ strychnine} \\ 0,0879 \text{ brucine} \end{array} \right.$

0,1918 extr. = 0,0200 en strychnine et 0,0168 en brucine.

0,1918 extr. + 1.000 cc. H²O = sol. 1/50.000 en strychn.

Les résultats de nos expériences sur ces deux solutions d'extrait sont les suivants :

EXTRAIT N° 1

1^{re} Série d'expériences :

Temps de survie (en minutes)

192 - 93 - 107 - 137 - 97 - 102 - 90 - 106

Temps moyen : 115 minutes.

2^e Série d'expériences :

Temps de survie (en minutes)

112 - 93 - 146 - 114 - 140 - 92 - 101 - 105

Temps moyen : 112 minutes.

EXTRAIT N° 2

1^{re} Série d'expériences :

Temps de survie (en minutes)

112 - 131 - 96 - 104 - 109 - 92 - 116 - 87

Temps moyen : 105 minutes.

2^e Série d'expériences :

Temps de survie (en minutes)

85 - 103 - 120 - 136 - 97 - 107 - 118 - 88

Temps moyen : 107 minutes

Nous avons voulu, devant l'écart assez considérable et bizarre constaté entre ces résultats et ceux sur la strychnine pure, vérifier les chiffres obtenus dans le cas des solutions d'extraits, en faisant une solution représentant exactement la teneur en alcaloïdes totaux de l'extrait n° 1. Nous avons donc prélevé 0,0200 de strychnine + 0,0233 de brucine pure et fait des solutions analogues aux précédentes.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

Solution d'alcaloïdes : $\left. \begin{array}{l} 0,0200 \text{ strychnine} \\ 0,0233 \text{ brucine} \end{array} \right\} \text{H}_2\text{O qs. p. 1.000 cc.}$
représentant les alcaloïdes totaux de l'extrait n° 1.

1^{re} Série d'expériences :

Temps de survie des poissons (en minutes)

120 - 90 - 123 - 98 - 90 - 119 - 109 - 134

Temps moyen : 110 minutes.

2^e Série d'expériences :

Temps de survie des poissons (en minutes)

117 - 113 - 93 - 100 - 123 - 92 - 117 - 111

Temps moyen : 108 minutes.

Nous remarquons la similitude des résultats obtenus entre les solutions de l'extrait n° 1 et de la solution des alcaloïdes purs au même titre qu'ils se trouvent dans l'extrait.

Dans ces deux cas, la survie des poissons est le double de ce que l'on constate dans une solution de strychnine pure de même titre.

Nous ne pouvons expliquer ce fait que par l'intervention d'un rôle *phylactique de la brucine*.

Le rôle phylactique d'un alcaloïde vis-à-vis d'un autre alcaloïde a déjà été signalé par MM. GORIS et MÉTIN (1) en ce qui concerne l'anthorine de l'*Aconitum Anthora* L., et l'aconitine de l'*Aconitum Napellus* L. Il y a donc ici un fait du même ordre. Ce fait est intéressant au point de vue général.

Par contre il nous montre que si l'expérimentation physiologique sur les épinoches est un réactif qualitatif précieux, et même un moyen de dosage — quoique délicat — d'une solution de strychnine pure, elle peut aussi, comme nous venons de le montrer, induire en erreur, si l'on se trouve en présence d'un mélange de strychnine et de brucine, comme, par exemple, dans le cas d'une préparation de strychnées ou d'un empoisonnement par une de ces préparations.

Il paraît, de plus, nécessaire d'opérer sur une série de poissons afin de prendre la moyenne des temps de survie, moyenne qui, comme nous l'avons vu, est assez constante dans les mêmes conditions d'expérimentation.

L'échec de cette méthode sur les poissons nous a conduit à des essais biologiques sur les cobayes.

Des essais semblables ont été déjà pratiqués par différents auteurs : F. H. FALK (2), M. CARRARA (3), G. BRUNNER (4), WHALE (5), qui fixent la dose mortelle de la strychnine en injection sous-cutanée à 0 gr. 0033 à 0 gr. 0040 par kilo de cobaye.

(1) A. GORIS et M. MÉTIN : Action préventive de l'Anthorine vis-à-vis de l'Aconitine. *C. R. Ac. Sc.* **180**, 1925, p. 1132.

M. MÉTIN : Les variations de la teneur alcaloïdique de l'*Aconitum Napellus* L. Thèse Doct. Pharmacie, Paris 1925.

(2) F. H. FALK : *Arch. f. d. ges. Physiologie*, **26**, 1885, p. 285. Thèse Doct. Pharmacie.

(3) M. CARRARA : *Zentrabl. innere Med.*, 1898, p. 365.

(4) G. BRUNNER : *Fortschrift d. Mediz.*, **16**, 1898, p. 365.

(5) WHALE : *Journal of Pharmacology*, **1**, 1909-1910, p. 39.

L. LAUNOY (1) prétend que dans la saison froide les cobayes survivent à une dose de 0 gr. 0050 par kilo.

Nos essais, pratiqués de la façon suivante, ne nous ont pas amené à des conclusions semblables, malgré toutes les précautions employées et les nombreux essais répétés auxquels nous nous sommes livrés.

Nous avons opéré sur des cobayes pesant de 300 à 600 gr., à jeun depuis vingt-quatre heures. Nous avons injecté nos solutions par voie intrapéritonéale, car les piqûres sous-cutanées laissent échapper souvent une partie du liquide injecté.

La solution de notre *échantillon de strychnine* est obtenue en partant d'un sel pur soluble, le sulfate neutre de strychnine dissous dans du sérum physiologique à 9 0/00.

Le sulfate neutre de strychnine $(C^{21}H^{22}Az^2O^2)^2 \cdot So^4H^2 + 5H^2O$ a pour P.M. = 856 et renferme deux molécules de strychnine de P.M. = $334 \times 2 = 668$ pour une de sel. Il faudra donc prendre $\frac{856}{668} = 1$ gr. 2814 de sulfate neutre de strychnine pour avoir un

gramme de strychnine. Cette quantité (1 gr. 2814) dissoute dans 1.000 cc. de liquide physiologique à 9 0/00 nous donnera une solution telle que 1 cc. = 0 gr. 001 de *strychnine base*.

Voici les résultats obtenus :

Poids du cobaye	Milligr. de brucine injectés	de strychnine par Kg. d'animal	Quantité de strychnine injectée en milligr.	Temps de survie
520 gr.	»	0,0033	0,0017	aucun symptôme
390 gr.	»	0,0040	0,0015	»
490 gr.	»	0,0060	0,0029	»
370 gr.	»	0,0060	0,00222	»
350 gr.	0,0040	0,0060	0,00210	»
380 gr.	»	0,0080	0,00304	»
310 gr.	0,0040	0,0080	0,00250	»
360 gr.	0,0080	0,0080	0,00290	»
510 gr.	»	0,0090	0,0046	»
550 gr.	»	0,0090	0,0049	»
570 gr.	»	0,0090	0,00513	»
450 gr.	0,0040	0,0090	0,00405	24 minutes
385 gr.	0,0050	0,0090	0,0038	18 minutes
540 gr.	0,0060	0,0090	0,0048	20 minutes
360 gr.	0,0010	0,0090	0,00325	aucun symptôme
420 gr.	0,0020	0,0090	0,0038	»
390 gr.	0,0030	0,0090	0,0035	152 minutes
410 gr.	0,0030	0,0090	0,00369	147 minutes
345 gr.	»	0,0100	0,00354	21 minutes
510 gr.	»	0,0100	0,00510	22 minutes
345 gr.	»	0,0100	0,00345	28 minutes

Nous remarquons par ces chiffres que la dose toxique est voisine de 0 gr. 0100 par kg. de cobaye, soit 0,00001 par gramme

(1) L. LAUNOY : Peut-on accoutumer le cobaye à la strychnine ? *C. R. Acad. Sc.*, 152, 1911, p. 1698.

d'animal. On pourra dire que l'unité toxique est de l'ordre du centième de milligramme et que la dose toxique sera de dix unités toxiques. Si on adjoint une quantité de brucine égale à 3 milligr. ou 4 milligr., la dose toxique en strychnine descend à 0,000009 par gramme d'animal, c'est-à-dire à neuf unités toxiques. La quantité de brucine ajoutée intervient donc comme une unité toxique de strychnine. Cette relation se vérifie pour les dosages des deux extraits suivants.

Nous opérons sur des solutions d'extraits en milieu physiologique, l'extrait ayant été dissous auparavant dans 2 cc. de sol. de $\text{So}^2\text{H}^4 \text{ N}/10$ pour faciliter la dissolution des alcaloïdes.

Voici la teneur de ces extraits dosés par notre méthode et le titre de leur solution :

Extrait n° 1

$$1 \text{ gr. extrait } \left\{ \begin{array}{l} 0,0975 \text{ brucine } (53,86 \%) \\ 0,0835 \text{ strychnine } (46,14 \%) \end{array} \right.$$

$$0,001 \text{ strychnine} = \frac{1}{0,000835} = 0,01197 \text{ extrait}$$

1 gr. 197 d'extrait sont dissous dans 100 cc. de liquide physiologique.

1 cc. solution = 0,001 strychnine et 0,00116 de brucine

Extrait n° 2

$$1 \text{ gr. extrait } \left\{ \begin{array}{l} 0,1053 \text{ strychnine } (54,51 \%) \\ 0,0879 \text{ brucine } (45,49 \%) \end{array} \right.$$

$$0,001 \text{ strychnine} = \frac{1}{0,001053} = 0,009496 \text{ extrait}$$

0 gr. 9496 d'extrait sont dissous dans 100 cc. liquide physiologique.

1 cc. solution = 0,001 strychnine et 0,00084 de brucine

Les résultats obtenus avec ces solutions d'extraits sont consignés dans ce tableau :

Extrait N° 1

Poids du cobaye	Milligr. de strychnine par Kg d'animal	Dose injectée en strychnine	Temps de survie
430 gr.	0,0080	0,0035	survécu
655 gr.	0,0090	0,0059	19 minutes
380 gr.	0,0090	0,0034	17 minutes
420 gr.	0,0090	0,0038	22 minutes

Extrait N° 2

435 gr.	0,0090	0,0039	survécu
275 gr.	0,0090	0,0025	survécu
495 gr.	0,0100	0,00495	22 minutes
315 gr.	0,0100	0,00315	24 minutes

Nous constatons que pour l'extrait n° 1, la dose mortelle est bien de 0,000009 par gramme d'animal, la quantité de brucine ajoutée comptant pour une unité toxique (0 gr. 000001). Dans l'extrait n° 2, l'apport de la brucine n'arrive pas à égaler la toxicité d'une unité de strychnine (0,000001) et il faut injecter 0 gr. 000010 en strychnine par gr. d'animal pour avoir la dose mortelle. On voit donc que la brucine intervient peu et que la toxicité des préparations de Noix vomique sur le cobaye correspond bien au dosage chimique (1).

Il y a lieu de faire une remarque très importante. Si après injection de ces solutions d'extraits, la durée des temps de survie est comparable à celle obtenue après injection des solutions de strychnine, les phénomènes physiologiques ne se présentent pas de la même façon. Les crises sont moins violentes et moins nombreuses. Il semblerait donc que l'action de la brucine donne une atténuation des phénomènes tétaniques de la strychnine.

Nos expériences sur les épinoches nous ayant amené à considérer que la brucine exerçait une action phylactique vis-à-vis de la strychnine, nous avons cherché à la constater sur les cobayes.

Nous avons tout d'abord remarqué qu'elle ne se produisait pas en ce qui concerne la durée de survie quand on injectait les cobayes avec la strychnine et la brucine simultanément.

Nous avons donc cherché si l'action phylactique se produisait quand on injectait la brucine avant la strychnine et dans quelles conditions expérimentales l'action s'effectuait le plus favorablement.

Nous avons obtenu des résultats assez variables, certains animaux ayant survécu dans ces conditions, tandis que d'autres moururent avec toutefois une durée de survie légèrement augmentée.

Mais un fait constant est la très grande atténuation des phénomènes tétaniques.

Les animaux injectés préalablement avec la brucine présentent une seule crise initiale, puis gardent une agilité constante des quatre membres, et meurent doucement sans autre crise tétanique. Les animaux injectés à la strychnine seule gardent une tétanisation constante des membres, interrompue par de fréquentes crises.

(1) N. B. — La toxicité de la brucine est 40 fois moindre que celle de la strychnine pour le cobaye. Elle est de l'ordre de 0,0004 par gramme de cobaye

Le tableau suivant nous montrera dans quelles conditions expérimentales les meilleurs résultats ont été obtenus :

Injection de 0,0010 de brucine, une heure avant l'injection des 10 unités mortelles de strychnine ou de l'extrait n° 2 ou des 9 unités de l'extrait n° 1 (soit respectivement 0,000010 et 0,000009 par gramme de cobaye).

Poids du cobaye	Brucine injectée	Temps séparant l'injection de brucine de celle de strychnine	Milligr. de strychnine par Kg de cobaye	strychnine injectée	Temps de survie
545 gr.	0,0010	1 heure	0,0100	0,00545	30 minutes
515 gr.	0,0010	1 »	0,0100	0,00515	33 minutes
310 gr.	0,0010	1 »	0,0100	0,0031	survécu
435 gr.	0,0010	1 »	0,0100	0,00435	122 minutes
385 gr.	0,0020	2 »	0,0100	0,00385	32 minutes
425 gr.	0,0020	2 »	0,0100	0,00425	27 minutes
485 gr.	0,0030	3 »	0,0100	0,00485	21 minutes
370 gr.	0,0040	4 »	0,0100	0,0037	21 minutes
585 gr.	0,0040	24 »	0,0100	0,00585	27 minutes
380 gr.	0,0010	1 »	0,0090	0,00342	survécu
Extrait N° 1					
325 gr.	0,0010	1 »	0,0100	0,00325	survécu
Extrait N° 2					
370 gr.	0,0010	1 »	0,0090	0,00333	survécu
Extrait N° 1					
430 gr.	0,0010	1 »	0,0100	0,00430	survécu
Extrait N° 2					

Les résultats de nos essais physiologiques nous amènent aux considérations suivantes :

1° Les dosages physiologiques, au moyen des épinoches, peuvent donner de bons résultats constants pour le dosage de la strychnine seule à condition de prendre un temps moyen de survie des poissons;

2° Il est impossible, au moyen des épinoches, de doser une préparation galénique de Strychnodes, car la brucine joue un rôle phylactique vis-à-vis de la strychnine et une comparaison avec un étalon strychnine devient impossible à établir;

3° La dose létale pour le cobaye d'un extrait contenant plus de brucine que de strychnine serait de 9 unités, soit 0,000009 par gr. de cobaye.

La dose létale pour un extrait contenant plus de strychnine que de brucine est de 0,000010 par gramme de cobaye, soit 10 unités, comme s'il y avait de la strychnine pure.

L'action de l'extrait est physiologiquement moins violente

— quoique la durée de survie soit la même — que l'action d'une solution correspondante de strychnine seule.

4° Les méthodes de dosages chimiques et physiologiques de la strychnine et des préparations de Strychnées étant concordantes, la première de ces méthodes seule s'impose, mais il est indispensable de séparer les alcaloïdes pour doser la strychnine.

La brucine, dans certaines conditions expérimentales, semble jouer un rôle phylactique vis-à-vis de la strychnine;

Le parallélisme des dosages chimiques et physiologiques étant établi chez les poissons et les cobayes, il nous a paru intéressant de vérifier plus spécialement sur le chien l'action phylactique de la brucine vis-à-vis de la strychnine.

Nous avons tout d'abord établi la dose léthale minima de notre échantillon de strychnine par kilogr. de chien. Nous avons injecté à une série de chiens mâles à jeun depuis vingt-quatre heures, par voie sous-cutanée, à hauteur du thorax, une solution de sulfate neutre de strychnine préparée comme précédemment pour nos essais sur les cobayes, et titrée de façon à ce qu'un centimètre cube de la solution corresponde à un milligramme de *strychnine base*. Voici les résultats obtenus (1) :

Poids des chiens en Kg.	Dose de Strychnine injectée par Kg d'animal en milligrammes	Dose totale Strychnine injectée en milligrammes	Temps de survie en minutes
10,200	0,7	7,14	55'
6	0,6	3,6	23'
13,500	0,5	6,75	20'
17,150	0,45	7,71	20'
14,500	0,4	5,80	35'
15,100	0,35	5,28	65'
13,300	0,35	4,65	58'
8	0,35	2,80	68'
10	0,325	3,25	survécu
10,300	0,325	3,34	survécu

La dose léthale est d'après nos essais de 0,00035 par kilog. de chien dans nos conditions expérimentales, soit de 0,00000035 par gramme. L'unité toxique serait donc de l'ordre du dix millième de milligramme par gramme et la dose toxique de 3 unités et demie. Le chien est donc beaucoup plus sensible à la strychnine que le cobaye.

(1) N. B. — Divers auteurs fixent la dose léthale de la strychnine entre 0 milligr. 75. et 0 milligr. 35 par kilogramme de chien et par injection sous-cutanée,

Nous avons ensuite injecté au préalable à une série de chiens des quantités diverses de brucine, une heure avant l'injection de la dose mortelle de strychnine (soit 0 milligr. 35 par kilogr. d'animal). *Tous les chiens ont survécu*, mais selon la quantité de brucine injectée auparavant, ont réagi différemment.

Voici les observations faites au cours de nos essais :

Poids des chiens en kg	Quantité injectée en milligr.	Intervalle entre injection brucine et strychnine en milligr.	Dose de strychnine injectée par Kg d'animal en milligr.	Dose totale injectée en milligr.	Observations
8,500	2	1 heure	0,35	2,97	<i>Survécu.</i> Très nombreuses crises, comme s'il n'avait reçu que de la strychnine.
11,250	4	—	0,35	3,93	<i>Survécu.</i> Même observation que ci-dessus.
11	8	—	0,35	3,85	<i>Survécu.</i> Une seule et courte crise initiale 15 minutes après piqûre.
15,100	12	—	0,35	5,28	<i>Survécu.</i> Deux crises tétaniques 34 minutes après piqûre.
12,200	8	—	0,36	4,39	<i>Survécu.</i> Cinq crises tétaniques.
9,400	8	—	0,37	3,47	<i>A survécu</i> 4 h. 1/2.

D'après ces essais, les conditions de *phylaxie* les plus favorables semblent devoir être apportées par l'injection préalable de 8 milligr. de brucine une heure avant l'injection de la dose mortelle de strychnine (0 milligr. 35 par kilogr. de chien). Un chien a survécu à la dose de 0 milligr. 36 par kilogr. et un autre auquel on a administré 0 milligr. 37 de strychnine par kilogr. est mort après plus de quatre heures.

Le manque d'animaux et le sujet de notre thèse ne nous ont pas permis de pousser plus loin ces recherches, mais ces résultats confirment d'une façon assez nette ceux déjà obtenus sur les poissons et les cobayes, et nous pouvons conclure à une action *phylactique très nette de la brucine vis-à-vis la strychnine*.

CONCLUSIONS

1° Les diverses méthodes proposées pour le dosage des alcaloïdes totaux dans les préparations des Strychnées donnent des résultats assez différents les uns des autres;

2° Le dosage gravimétrique *par pesée directe* des alcaloïdes fournit un chiffre toujours trop élevé par suite de la combinaison des alcaloïdes (strychnine, brucine) avec le chloroforme, combinaison stable qui n'est pas dissociée par un séjour prolongé à l'étuve à 110°.

On peut diminuer cette erreur en employant un mélange éthéro-chloroformique assez riche en éther pour éviter la combinaison de la strychnine avec le chloroforme sans nuire à la solubilité de la strychnine dans ce mélange. Mais on ne peut empêcher la combinaison de la brucine au chloroforme.

En employant la table de correction que nous avons donnée page 32 il serait possible de calculer cette erreur par excès, mais il est indispensable de faire auparavant la séparation de la strychnine et de la brucine.

Le procédé ne présente alors pas d'avantages sur le dosage de la strychnine seule et il nécessite une opération supplémentaire;

3° Le dosage gravimétrique à l'état de silicotungstate serait préférable. Il donne des résultats constants, et sa technique, quoique délicate, est facile. Mais on doit faire intervenir un coefficient arbitraire pour tenir compte du rapport de la strychnine et de la brucine contenus dans les produits à doser. Si ce rapport strychnine-brucine est égal à 1, cette constante serait égale à 0,512. Mais comme il varie pour chaque préparation, et que pour pouvoir calculer la constante il faut connaître le pourcentage exact de chaque alcaloïde, on est amené à les séparer, d'où nécessité d'une seconde opération absolument inutile puisque la séparation suffira à nous renseigner sur la teneur exacte de chaque alcaloïde.

4° Les méthodes volumétriques de dosage des alcaloïdes

totaux donnent des résultats assez constants entre elles. Ces procédés ont, comme le précédent, l'inconvénient d'admettre une constante arbitraire d'un PM de 364 qui correspond à un rapport $\frac{\text{strychnine}}{\text{brucine}} = 1$.

Cette constante, ainsi que nous l'avons vu, est toujours en défaut; le rapport $\frac{\text{strychnine}}{\text{brucine}}$ étant tantôt supérieur et tantôt inférieur à 1.

De plus, la technique est assez délicate surtout lorsqu'on fait le tirage au moyen des solutions N/100;

5° Si l'on devait exprimer la valeur des préparations des Strychnées par le teneur en *alcaloïdes totaux*, nous recommanderions le procédé au silicotungstate, mais nous préférons de beaucoup le dosage en strychnine seule, qui est *toujours précis* et donne un *chiffre réel* de ce que l'on a dosé.

Il n'y a pas ici à faire intervenir de coefficient tenant compte des proportions respectives des deux alcaloïdes, coefficient qui devrait être différent non seulement pour les préparations de Noix vomiques et de Fèves de Saint-Ignace, mais encore, ainsi que nous l'avons montré, pour chacune de ces préparations.

Si dans la Fève de Saint-Ignace la quantité de strychnine est toujours supérieure à celle de la brucine, il n'est pas toujours exact d'admettre que dans la Noix vomique l'inverse soit de règle, et que la quantité de brucine soit supérieure à celle de la strychnine. Le dosage en strychnine seule, a l'avantage sur tous les autres procédés, de pouvoir s'appliquer à toutes les préparations de Strychnées sans avoir à faire intervenir toutes ces considérations.

Le reproche que l'on peut lui faire est de ne pas tenir compte de la quantité de brucine, quoiqu'il soit très aisé de le faire au moyen de la table de correction. Mais, étant donné le peu d'activité de cet alcaloïde comparé à celui de la strychnine, nous pouvons très bien ne pas en faire état, ou encore admettre, arbitrairement, il est vrai, que la quantité de brucine est sensiblement égale à celle de la strychnine pour les préparations de Noix vomique seulement.

Après avoir critiqué les coefficients arbitraires on pourrait nous faire le reproche d'en faire intervenir un dans nos résultats. Du point de vue général, cette critique serait juste, mais pratiquement elle n'a pas grande valeur, car l'erreur porte sur

un composé peu actif, la brucine, tandis que dans les autres cas l'erreur porte sur le composé le plus actif, la strychnine;

7° La méthode que nous préconisons pour le dosage de cet alcaloïde dans les préparations de Strychnées, consiste donc en une extraction des alcaloïdes totaux par l' AzH^3 et dissolution dans un mélange éthéro-chloroformique de titre déterminé. Le résidu purifié, desséché puis pesé est dissous dans une solution sulfurique et traité par un mélange azotique pour détruire la brucine. La strychnine est alors extraite à nouveau, purifiée et pesée. On pourrait déduire le poids de brucine par différence puis correction.

Ce procédé peut être simplifié par la suppression de la pesée des alcaloïdes totaux. Dans ce cas, le résidu d'alcaloïdes dissous dans la solution d' SO^4H^2 est aussitôt traité par le mélange azotique;

8° La technique employée pour le dosage des alcaloïdes dans les *Poudres des Strychnées* (Noix vomique et Fève de Saint-Ignace) est la suivante : Elle est basée sur le procédé d'extraction des alcaloïdes de la Noix vomique du Codex français, avec cette différence que nous employons un mélange éthéro-chloroformique (3 part. éther, 1 part. CHCl^3) plus riche en CHCl^3 que celui du Codex (5 part. éther, 1 part. CHCl^3), afin de dissoudre toute la strychnine peu soluble dans l'éther, mais cependant encore assez riche en éther pour éviter la formation du composé strychnine-chloroforme.

Dosage des alcaloïdes des Poudres de Noix vomique et de Fèves de Saint-Ignace

Déterminez la teneur en eau en desséchant 0 gr. 50 de cette poudre à l'étuve à 100°, jusqu'à poids constant.

Introduisez dans un flacon bouchant à l'émeri une quantité de poudre correspondant à 12 gr. de poudre séchée à 100°.

Ajoutez un mélange de 30 cc. de CHCl^3 et de 90 cc. d'éther officinal. Bouchez fortement de flacon et agitez pendant cinq minutes; ajoutez 5 cc. d'un mélange à parties égales d' AzH^3 officinal et d'eau distillée. Maintenez le bouchon à l'aide d'un linge retenu par une ficelle fortement serrée autour du col; laissez vingt-quatre heures en contact et en agitant de temps en temps. Laissez déposer et filtrez 80 cc. de la liqueur éthéro-chloroformique au travers d'un filtre à plis contenu dans un enton-

noir recouvert d'une plaque de verre. Cette quantité correspond à 8 grammes de poudre sèche.

Introduisez le liquide filtré dans une ampoule à décantation et agitez successivement avec 25 cc., 15 cc. et 10 cc. d'un mélange de 2 cc. d'HCl officinal et 48 cc. d'eau distillée.

Réunissez les solutions acides dans une deuxième ampoule; ajoutez 50 cc. du mélange éthéro-chloroformique, puis un léger excès d' AzH^3 1/2.

Agitez fortement à plusieurs reprises sans crainte de troubler le mélange.

Après séparation complète des deux couches liquides, soutirez le liquide aqueux ammoniacal dans une nouvelle ampoule, et agitez encore à plusieurs reprises avec 30 cc. du mélange éthéro-chloroformique.

Réunissez les liqueurs éthéro-chloroformiques que vous distillerez en deux fois au bain-marie dans une fiole conique de 150 cc. Portez le résidu alcaloïdique pendant deux heures à l'étuve à 110°.

Reprenez les alcaloïdes par 15 cc. d'une solution aqueuse contenant 3 % en poids d' So^4H^2 . Chauffez au bain-marie bouillant jusqu'à dissolution complète des alcaloïdes. Ajoutez alors, à chaud, 3 cc. d'une solution au 1/2 d' Azo^3H de densité 1,41 à 1,42 et laissez en contact exactement dix minutes.

Versez le liquide dans une ampoule à décantation et rincez la fiole avec deux fois 5 cc. d'eau distillée. Versez un excès d' AzH^3 , et extrayez la strychnine par 15 cc., 10 cc. et 5 cc. de CHCl^3 .

Distillez le chloroforme, et dissolvez à chaud le résidu dans 30 cc. d'une solution d'HCl à 4 %; filtrez après refroidissement sur un peu de coton mouillé, rincez avec 5 cc. d'eau distillée, versez la liqueur aqueuse dans une ampoule à décantation, déplacer par l' AzH^3 et extrayez par 50 cc. puis 30 cc. d'un mélange éthéro-chloroformique contenant 30 cc. de CHCl^3 et 90 cc. d'éther.

Réunissez les liqueurs éthéro-chloroformiques, lavez-les avec 2 cc. d'eau que vous enlèverez par soutirage, et distillez au bain-marie en deux fois, dans une fiole conique tarée de 150 cc.

Portez à l'étuve à 110° et pesez le résidu de strychnine.

Pour l'extrait nous recommandons l'emploi de la technique déjà préconisée par MM. GORIS et WIRTH, qui permet de purifier les alcaloïdes bien plus facilement et plus vite qu'avec le procédé du Codex français.

L'extrait est dissous à chaud dans une solution d'acide acétique au dixième; après refroidissement, les résines insolubles restent sur le coton mouillé servant de filtre, et les alcaloïdes passent en solution à l'état de sels solubles.

Dosage de l'extrait de Noix vomique

Pesez avec précision un gramme d'extrait que vous ferez dissoudre à chaud dans une capsule de porcelaine avec 10 cc. d'une solution d'acide acétique au dixième. Laissez refroidir et versez la solution sur un petit coton mouillé placé dans un entonnoir au-dessus d'une ampoule à décantation. Lavez avec deux fois 5 cc. d'eau acidulée capsule, entonnoir et coton. Ajoutez 50 cc. d'un mélange éthéro-chloroformique comprenant 30 cc. de CHCl_3 et 90 cc. d'éther, et ajoutez un excès d' AzH^3 au 1/2. Agitez fortement à plusieurs reprises. Soutirez la solution aqueuse dans une deuxième ampoule à décantation et agitez-la à plusieurs reprises avec 30 cc. du même mélange éthéro-chloroformique.

Réunissez les liqueurs éthéro-chloroformiques et laissez-les une demi-heure au repos. Le mélange devient presque incolore. Lavez-les avec 5 cc. d'eau distillée, bien neutre, que vous enlèverez par soutirage, et distillez le mélange au bain-marie dans une fiole conique de 150 cc. Portez pendant deux heures à l'étuve à 110°.

Dissolvez le résidu desséché dans 30 cc. d'une solution d' HCl à 4 % à chaud, et après refroidissement filtrer sur un fragment de coton mouillé contenu dans un entonnoir au-dessus d'une ampoule à décantation. Lavez avec deux fois 5 cc. d'eau acidulée fiole, entonnoir et coton. Ajoutez à la liqueur aqueuse acide un excès d' AzH^3 au 1/2 et extrayez les alcaloïdes déplacés par 50 cc., puis 30 cc. de mélange éthéro-chloroformique.

Distillez en deux fois ce mélange dans une fiole conique de 150 cc. et portez à l'étuve à 110° pendant deux heures. Séparez ensuite les alcaloïdes comme il est dit précédemment pour le dosage des alcaloïdes dans la poudre de Noix vomique (p. 57).

Pour les teintures de Noix vomique et de Fèves de Saint-Ignace nous évaporons un poids de teinture au bain-marie de manière à obtenir un extrait mou ou simplement privé d'alcool et nous continuons l'opération comme pour l'extrait.

Dosage des teintures de Noix vomique et de Fèves de St-Ignace.

»

Pesez avec précision 50 grammes de teinture dans une capsule de porcelaine tarée. Portez-la au bain-marie bouillant pour chasser tout l'alcool.

Continuer alors comme il est dit pour l'extrait de Noix vomique.

9° La teneur des diverses préparations des Strychnées du Codex devrait être :

Poudre de Noix vomique : 1 gr. 25 % en strychnine.

Si ce chiffre était dépassé, la poudre serait additionnée de sucre de lait ou d'amidon.

Teinture de Noix vomique : 1 gr. 25 0/00 en strychnine.

Extrait de Noix vomique : 7 gr. % en strychnine.

Poudre de Fèves de Saint-Ignace : 1 gr. 75 % en strychnine.

Si ce chiffre était dépassé, la poudre serait additionnée de sucre de lait ou d'amidon.

Teinture de Fèves de St-Ignace : 2 gr. 50 0/00 en strychnine.

10° Le dosage de la strychnine seule a, de plus, à notre avis, un très grand avantage sur les autres méthodes. Il concorde avec le dosage physiologique, et par conséquent rend celui-ci superflu pour l'évaluation de l'activité des préparations des Strychnées. Les résultats du dosage chimique et du dosage physiologique sont en effet parallèles. La toxicité d'une préparation de Strychnées est surtout facteur de la quantité de strychnine, la brucine n'augmentant que très légèrement la toxicité de cette préparation;

11° La brucine semble avoir une action phylactique vis-à-vis de la strychnine. Si nos expériences sont moins nettes sur le cobaye, elles sont concluantes sur les poissons et les chiens.

Dans tous les cas, cette action phylactique est très appréciable sur la modalité d'action de la strychnine, dont les réactions tétaniques sont fortement atténuées.

Vu, bon à imprimer :

Vu :

Le Président de la Thèse,

Le Doyen de la Faculté,

A. GORIS.

RADAIS.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

CHARLETY.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
PRÉFACE.	9
INTRODUCTION.	11
Méthodes de dosage des poudres de Noix vomiques dans les différentes pharmacopées (tableau)	14
Méthodes de dosage des teintures de Noix vomiques dans les différentes Pharmacopées (tableau)	17
Méthodes de dosage des extraits de Noix vomique dans les différentes Pharmacopées (tableau)	18
1^{re} Partie : Préparations de Noix vomiques	23
CHAPITRE I ^{er} . — Dosage des alcaloïdes par la méthode gra- vimétrique	23
<i>a</i>) Séparation des alcaloïdes. Dosage de la strychnine.	23
<i>b</i>) Dosage des alcaloïdes totaux par pesée directe.	30
<i>c</i>) Dosage des alcaloïdes totaux par l'acide silicotungs- tique	34
CHAPITRE II. — Dosage des alcaloïdes totaux par la méthode volumétrique	38
2^{me} Partie : Préparations de Fèves de Saint-Ignace.	42
3^{me} Partie : Dosage physiologique	45
CONCLUSIONS.	55

IMPRIMERIE GIRAULT

3, Place de l'Eglise, SAINT-CLOUD (S.-et-O.)

Téléphone 369

R. C. Versailles 15.467
